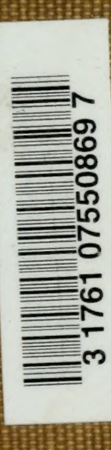
Handbuch der Technischen Mykologie

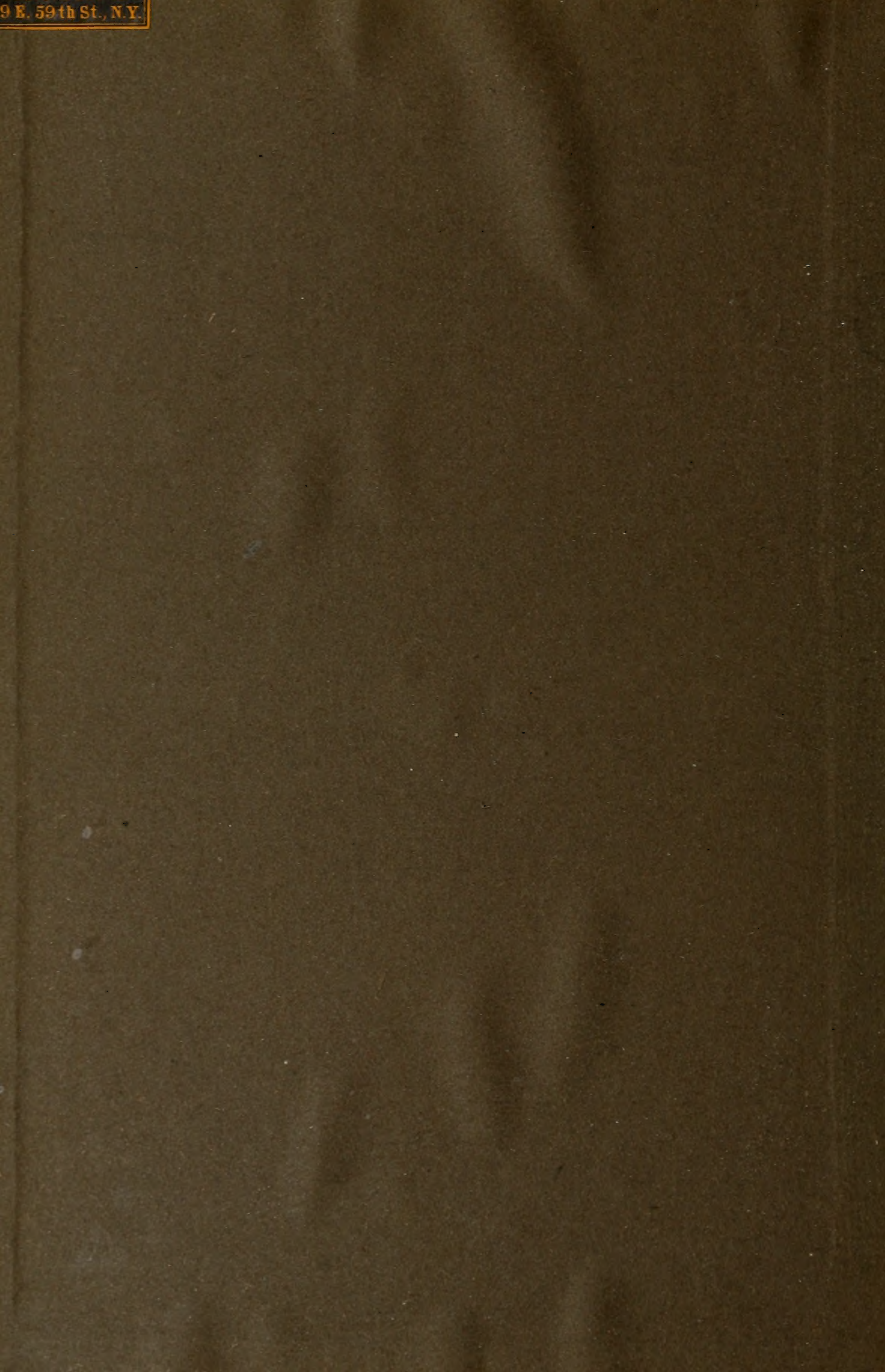
herausg. von F. Lafar

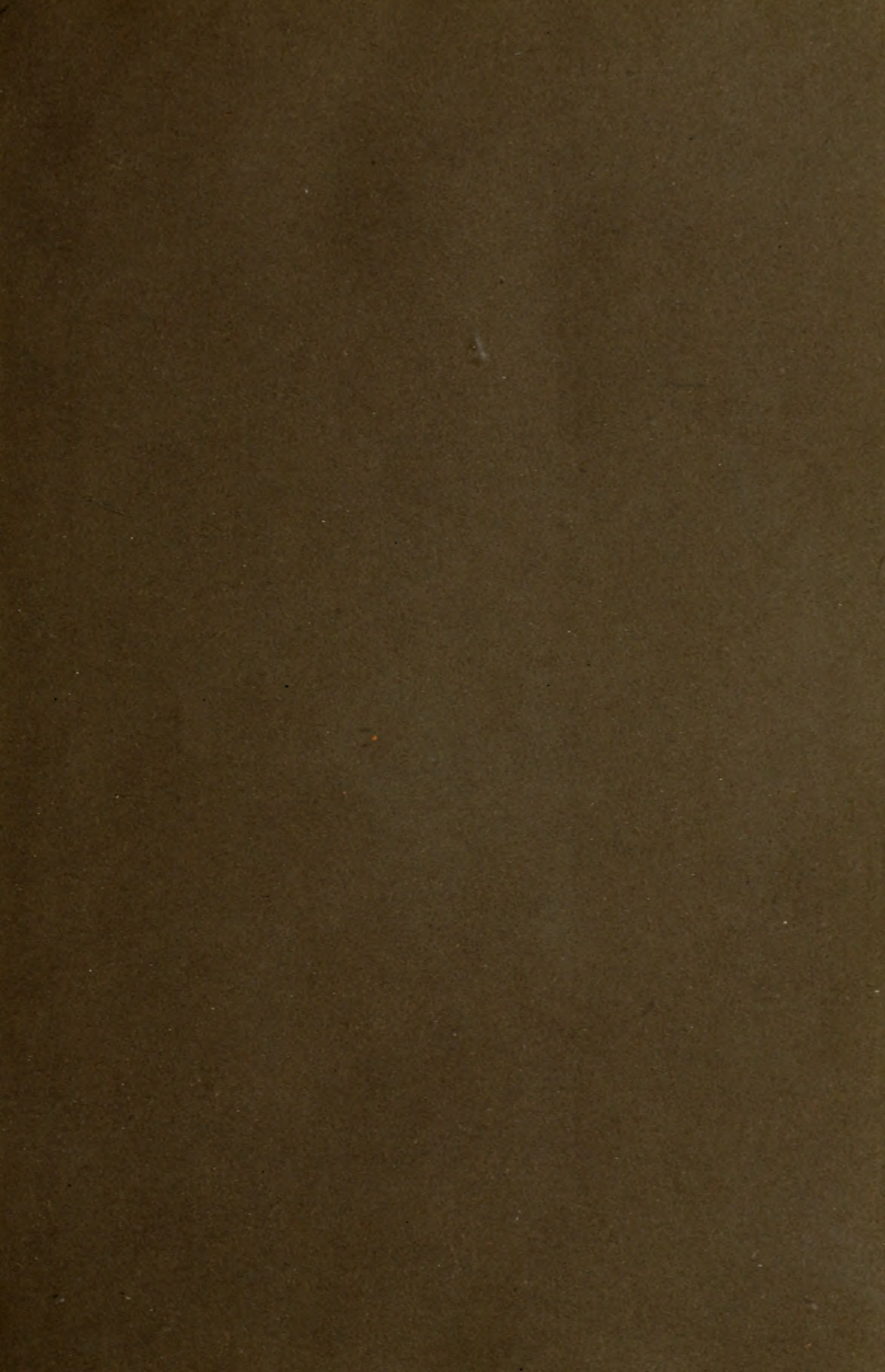
Dritter Band: Mykologie des Bodens, des Wassers und des Düngers.

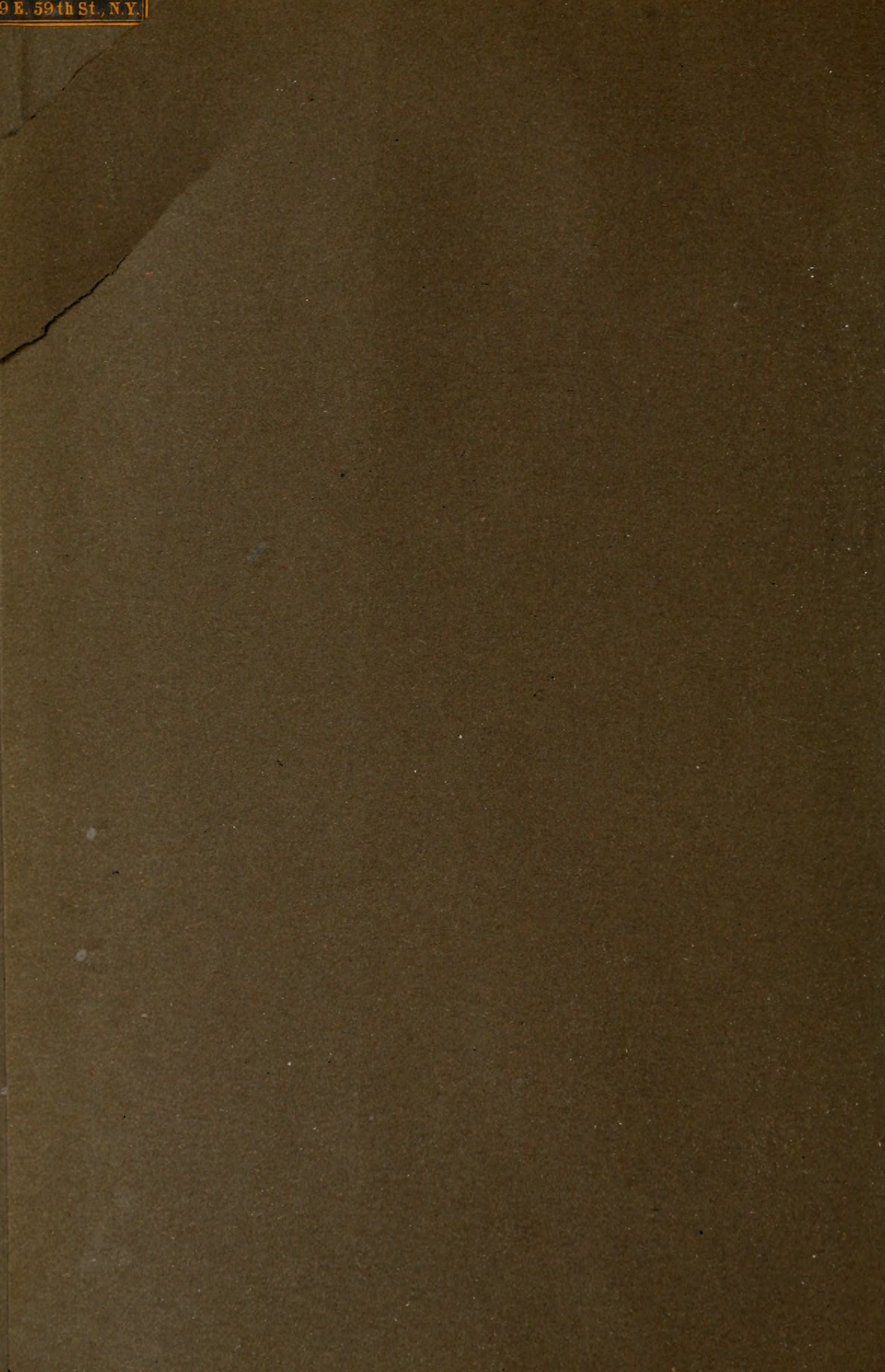




Jena, Verlag von
Gustav Fischer
1907






9 E. 59th St., N.Y.

Handbuch

der

Technischen Mykologie

für technische Chemiker, Nahrungsmittelchemiker, Gärungstechniker, Agrikulturchemiker, Landwirte, Kulturingenieure, Forstwirte und Pharmaceuten

unter Mitwirkung hervorragender Fachgenossen

herausgegeben von

Dr. FRANZ LAFAR,

o. ö. Professor der Gärungsphysiologie und Bakteriologie
an der k. k. Techn. Hochschule zu Wien.

In 5 Bänden.

(Zweite, wesentlich erweiterte Auflage von LAFAR, Technische Mykologie.)

Dritter Band.

Mykologie des Bodens, des Wassers und des Düngers.



Jena,

Verlag von Gustav Fischer.

1904—1907.

W. L. Holman
July 21st 1911

Handbuch

der

Technischen Mykologie.

Dritter Band.

Mykologie des Bodens, des Wassers und des Düngers.

Unter Mitwirkung der Herren

Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. Hahn** in München, Reg.-Rat Dr. **L. Hiltner** in München, Mag. scient. **Hj. Jensen** in Buitenzorg, Prof. Dr. **A. Koch** in Göttingen, Prof. Dr. **R. Kolkwitz** in Charlottenburg, Dr. **P. Miquel** in Paris, Dr. **W. Omelianski** in St. Petersburg, Dr. **A. Reinsch** in Altona, Dr. **W. Rullmann** in München, Dr. **A. Spieckermann** in Münster i. W., Prof. Dr. **C. Freiherr von Tubeuf** in München, Dr. **H. Wichmann** in Wien, Prof. Dr. **S. Winogradsky** in St. Petersburg

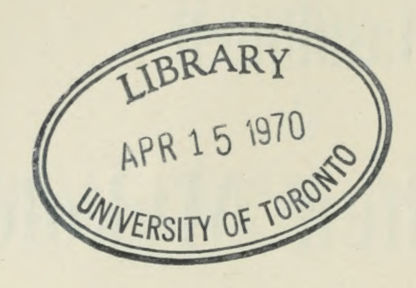
herausgegeben von

Dr. FRANZ LAFAR,
o. ö. Professor der Gärungsphysiologie und Bakteriologie
an der k. k. Technischen Hochschule zu Wien.

Mit 10 Tafeln und 90 Abbildungen im Text.



Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1904—1906.


LIBRARY
APR 15 1970
UNIVERSITY OF TORONTO

Inhaltsverzeichnis.

Erster Abschnitt.

Der Kreislauf des Stickstoffs.

Seite

1. Kapitel.

2. Kapitel.

3. Kapitel.

4. Kapitel.

Dritter Abschnitt.

Die Zersetzung der Baustoffe der Zellwände der Pflanzen.

Vierter Abschnitt.

Mykologie des Wassers.

Fünfter Abschnitt.

Mykologie des Düngers und des Bodens.

Von Prof. Dr. J. Behrens.

Erster Abschnitt.

Der Kreislauf des Stickstoffs.

(*Manuskript-Einlauf:
4. März 1904.*)

1. Kapitel.

Die Bindung von freiem Stickstoff durch frei lebende niedere Organismen. 5

Von Prof. Dr. Alfred Koch.

(Mit Tafel I.)

§ 1. Der Kreislauf des Stickstoffs in der Natur.

Für den Haushalt der Natur, für die Ernährung der auf der Erdoberfläche wachsenden Pflanzen und der von Pflanzensubstanz direkt 10 oder indirekt lebenden sonstigen Organismen und auch für alle anderen praktischen Zwecke scheint der Vorrat an Stickstoffverbindungen, der auf der Erde zur Verfügung steht, allein in Betracht zu kommen, und der unermeßlich reiche Gehalt der Luft an freiem, chemisch nicht gebundenem Stickstoff keine Rolle zu spielen, weil vielfache Untersuchungen 15 zeigten, daß die höheren Pflanzen mit Ausnahme der Leguminosen freien Stickstoff nicht zu ihrer Ernährung verwenden können und auch sonst keine chemischen oder physikalischen Mittel bekannt waren, um freien Stickstoff leicht in Verbindungen überzuführen.

Daß diese Auffassung nicht richtig sein kann, lehren die bakterio- 20 logischen Erfahrungen der neueren Zeit, aus denen hervorgeht, daß allgemein verbreitete Bakterien aus den Gruppen der fäulniserregenden, nitrifizierenden und denitrifizierenden Bakterien Stickstoff aus Verbindungen in Freiheit setzen und zwar die letztgenannten, wenn günstige Bedingungen obwalten, in ausgiebigem Maße. Der Vorrat an Stickstoff- 25 verbindungen auf der Erde wird auf diese Weise fortgesetzt verringert. Wenn wir aber trotzdem die Organismenwelt der Erde keinen Mangel an Stickstoffnahrung leiden sehen, muß auf irgend eine Weise dafür gesorgt sein, daß die Verluste, welche das aus Stickstoffverbindungen bestehende Kapital der Erde durch die Lebenstätigkeit der genannten 30 Bakterien erleidet, aus dem Vorrat an freiem, atmosphärischem Stickstoff wieder ergänzt wird.

Es ist nun bekannt, daß durch **Niederschläge** Ammoniak, salpetrige und Salpetersäure der Erde zugeführt werden. Durch dieses Ammoniak und jenes, welches der Boden je nach seinem Humusgehalt aus der Luft absorbiert, wird indessen der Vorrat an gebundenem Stickstoff auf 5 der Erde nicht eigentlich vermehrt, denn das Ammoniak gelangt erst durch Verdunstung von der Erde in die Luft. Dagegen entsteht die salpetrige und Salpetersäure des Regens durch Oxydation des freien Luftstickstoffs bei elektrischen Entladungen. Die Mengen an Stickstoff, die der Boden auf diese Weise zugeführt erhält, haben verschiedene 10 Autoren ziemlich verschieden hoch gefunden.

Aeltere Beobachtungen von Bretschneider und dreijährige Versuche mehrerer preußischer Versuchsstationen ergaben eine Zufuhr per Hektar und Jahr in Form von Ammoniak und Salpetersäure im Regen und anderen Niederschlägen von rund 12 kg Stickstoff, während Welbel (1) 15 in Südrußland neuerdings nur 4.25 kg fand. Eine (zum Teil auf eigene Versuche sich stützende) vergleichende Zusammenstellung der Mengen von Salpetersäure, wie sie in den atmosphärischen Niederschlägen einerseits in den gemäßigten, andererseits in den tropischen Klimaten zur Erde niederfallen, haben A. Müntz und V. Marcano (1) gegeben:

		Liebfrauenberg im Elsaß nach Boussingault	Rothamsted nach Lawes und Gilbert	Caracas in Venezuela nach Müntz und Marcano	Insel Réunion nach Raimbault
Ein Liter Regenwasser enthält Salpetersäure	mg	0,18	0,42	2.23	2.67
Ein ha Bodenfläche erhält dadurch pro Jahr Salpetersäure	kg	0,33	0,83	5,78	6,93

20 Zwei Beispiele werden aber nun zeigen, daß noch andere Wege vorhanden sein müssen, auf denen freier Stickstoff aus der Luft gebunden und der im Boden wurzelnden Pflanzendecke zugeführt wird, da fortgesetzt Generationen von freilebenden oder landwirtschaftlich kultivierten Pflanzen immer wieder Stickstoff aus dem Boden herausnehmen und 25 festlegen.

Buchenwald z. B. legt nach Henry (1) per Hektar und Jahr an Stickstoff fest

in 3000 kg Holz 15—25 kg N
in 3000 kg Blättern 30 „ „
30 zusammen 45—55 kg N

Dieser Stickstoffverbrauch wird bei weitem nicht ausgeglichen, wenn, wie oben gesagt, 12 kg Stickstoff in gebundener Form aus der Luft im Jahre zugeführt werden und auch nicht, wenn wir die angebliche Ammoniakabsorption der Erde in derselben Weise wie in dem gleich zu er- 35 wähnenden landwirtschaftlichen Beispiele in Rechnung stellen.

Kühn (1) hat nämlich in sehr überzeugender Weise gezeigt, daß beim Getreidebau ebenfalls Vorgänge im Boden sich abspielen müssen, durch welche freier Stickstoff aus der Luft gebunden wird. Kühn baute

auf dem landwirtschaftlichen Versuchsfelde in Halle seit 1878 auf einigen Parzellen stets Winterroggen und erntete auch ohne jede Düngung im Mittel der 5 Jahre 1894—1898 noch 19.7 Doppelzentner Roggenkörner per Hektar, während die statistischen Erhebungen nur eine Durchschnittsroggenernte von 10.8 Doppelzentner in Deutschland in den Jahren 1887—1896 ergaben. Daß der Roggen unter diesen Verhältnissen nicht unter Nahrungsmangel litt, geht auch daraus hervor, daß die Erträge der nicht mit Stickstoff gedüngten Parzellen, z. B. auf einer nur mit Kali und Phosphorsäure gedüngten Parzelle um 11,6 Proz., auf einer gar nicht gedüngten um 8.5 Proz. des Körnerertrags gestiegen sind, wenn man die Ernte aus 1879 mit der Mittelernte aus 1894 bis 1898 vergleicht. Der Roggen konnte dabei nicht aus einem großen Stickstoffvorrat des Bodens schöpfen, denn Stickstoffdüngung ergab einen erheblichen, sich gut bezahlt machenden Mehrertrag: z. B. steigerten 40 kg Stickstoff pro Hektar die Ernte um 800 kg Roggenkörner. Ein erheblicher Vorrat an Bodenstickstoff kann auch nicht mit der Zeit erst aufgeschlossen sein, denn die Wirkung der Stickstoffdüngung bleibt sich etwa gleich. Folglich sind die relativ günstigen Erträge der nicht mit Stickstoff gedüngten Parzellen auf die Stickstoffmengen zurückzuführen, die der Boden aus der Atmosphäre erhält. Kühn berechnet nun, daß das Hallenser Versuchsfeld in Form von NH_3 und NO_3H durch Niederschläge und durch Absorption von NH_3 per Morgen und Jahr 14.3819 Pfund N aus der Atmosphäre erhält, während nahezu die gleiche Menge z. B. auf einer nur mit Mineralstoffen ohne Stickstoff gedüngten Parzelle 14.6249 Pfund N in einem Jahre geerntet wurden. Trotzdem kann man nicht annehmen, daß der ganze in der Roggenernte gefundene Stickstoff aus dem NH_3 und der NO_3H der Atmosphäre stamme, weil die Pflanze bei der beschränkten Verbreitung ihrer Wurzeln nicht allen im Boden enthaltenen Stickstoff ausnutzen kann und weil bei der oben angegebenen Stickstofferernte der Stickstoff der Stoppeln und Wurzeln ohne Berechnung blieb. Wieviel Stickstoff die erwähnte Roggenparzelle auf anderem Wege noch erhalten mußte, lehrt folgende Berechnung: Nach Hellriegel sind zu einer Roggenmaximalernte 63 Gewichtsteile assimilationsfähiger gebundener Stickstoff nötig; danach und nach der Höhe der Kühn'schen Roggenernten müßte der Boden seiner Parzellen pro Morgen bis 20 cm Tiefe 47.25 Pfund Stickstoff hergeben. Wenn nun Niederschläge und Ammoniakabsorption dem Boden pro Morgen 14.3819 Pfund Stickstoff zuführen, so bleibt noch aufzuklären, woher der Boden die noch fehlenden 47,25—14,3819 = 32,87 Pfund Stickstoff pro Morgen erhält.

Kühn zögert nicht anzunehmen, daß diese Stickstoffmenge in der Weise dem Boden zugeführt wird, daß **Bodenbakterien freien atmosphärischen Stickstoff assimilieren** und führt an, daß Krüger (Krüger und Schneidewind [2]) im Boden des Hallenser Versuchsfeldes solche Bakterien fand. Auf dieselbe Weise erklärt Henry in der oben angeführten Untersuchung die Stickstoffernährung des Waldes, für welche die im nächsten Kapitel zu besprechende Stickstoffassimilation durch die mit Bakterien vergesellschafteten Leguminosen auch nicht nennenswert in Betracht kommen kann.

Henry brachte dürre Blätter von jungen Eichen und Hagebuchen in metallene Kästen, deren Böden mit Kalkstein- oder Sandsteinplatten ausgelegt und deren obere Oeffnungen mit Drahtgitter bedeckt waren und setzte sie 60 cm über dem Boden frei der Luft aus. Nach einem Jahre war der Stickstoffgehalt

der Eichenblätter
von 1,108 auf 1,923 Proz. also um 0,815 Proz. der Trockensubstanz,
der Buchenblätter
von 0,947 auf 2,246 Proz. „ „ 1,299 „ „ „

5 gestiegen. Die Gesamtmasse der Eichenblätter hatte sich in dieser Zeit um 21.62 Proz., die der Buchenblätter um 23,01 Proz. vermindert. Nimmt man nun den ungünstigsten, sehr unwahrscheinlichen Fall an, daß das Gewicht sich nur durch Verschwinden der stickstoffreien Stoffe (Zellulose, Stärke usw.) vermindert habe, und daß durch Regenwasser keinerlei 10 lösliche Stickstoffverbindungen fortgeführt wären, so würde sich der beim Abschluß des Versuches gefundene Stickstoffgehalt, auf das ursprüngliche Gewicht der Blätter bezogen, für die

Eichenblätter auf 1,508 Proz.
Buchenblätter „ 1,727 „

15 reduzieren. Folglich beträgt

der absolute Stickstoffgewinn der Eichenblätter 0,400 Proz.
„ „ „ „ Buchenblätter 0,780 „

Die ein Jahr lang der Luft ausgesetzten Blätter sind also relativ doppelt so reich an Stickstoff als zur Zeit des Abfalls von den Bäumen, und auch 20 die absolute Stickstoffzunahme ist merklich. Wenn der Boden im Herbst pro Hektar 3300 kg dürre Blätter empfängt, so beträgt der absolute Stickstoffgewinn für diese Fläche

durch Eichenblätter 13 kg
„ Buchenblätter 22 „

25 Diese Stickstoffmengen kommen denen, welche im Holze jährlich festgelegt werden, ungefähr gleich. Diese für die Stickstoffbilanz des Waldes sehr wesentliche stickstoffbindende Fähigkeit der abgefallenen Blätter führt Henry, wie bemerkt, auf niedere Organismen, die sich auf den Blättern ansiedeln, zurück, jedoch ist aus dem hier benutzten Referat 30 nicht zu ersehen, wie er diese Ansicht begründet.

§ 2. Nachweis und Reinkultur der freilebenden niederen Organismen, welche chemisch nicht gebundenen Stickstoff assimilieren.

Den bestimmten Nachweis, daß es freien Stickstoff assimilierende niedere Organismen gibt, führte zuerst Berthelot (1) durch eine große 35 Reihe von Untersuchungen. Er fand, daß Ackererde aus dem Untergrund sich mit Stickstoff anreichert, daß diese Fähigkeit aber aufhört, sobald die Erde durch Erhitzen auf 100° von niederen Organismen befreit ist. Damit ist der Beweis erbracht, daß niedere Organismen die Träger der Stickstoffanreicherung solchen Bodens sind und daß letztere 40 nicht, wie auch heute noch manche meinen, durch chemische oder physikalische Bindung an unbelebten Körpern, Eisenverbindungen u. a., zustande kommt. In welchen Dimensionen sich diese Stickstoffbindung im Boden durch niedere Organismen bewegt, zeigen folgende Zahlen Berthelot's:

45 50 kg lufttrockener Kulturboden wurde in Gefäßen von 1500 qcm Oberfläche, deren Boden mehrfach durchlöchert war und die ein Auffangen der Sickerwässer gestatteten, im offenen Felde dem Regen während 7 Monaten ausgesetzt. Es wurde dann eine Stickstoffzunahme von 12,73 g in der ganzen Erdmenge gefunden:

Anfänglicher Stickstoff-Gehalt	50,37	g
Durch Regen {N aus NH_3	0,0477	„
zugeführt {N aus NO_3H	0,0012	„
	50,42	g
Stickstoff-Gehalt am Schluß	62,48	g
Abgeflossener Salpetersäurestickstoff	0,674	„
„ Ammoniakstickstoff	?	
	63,15	g

Eine ebensogroße Probe desselben Bodens wurde durch Auswaschen zunächst von Salpetersäure befreit, was in dem ebenerwähnten Versuche nicht geschehen war, und fixierte dann in derselben Zeit 23,15 g N.

Im allgemeinen bewegten sich bei anderen Versuchen die Stickstoffzunahmen mindestens zwischen 5 und 10 g auf 50 kg Erde. Berthelot schätzt daher die Menge des auf die besprochene Weise fixierten Stickstoffs pro Hektar für eine Ackerkrume von 8—10 cm Dicke für gelben tonigen Sandboden auf 15—25 kg, für Kaolin auf 32 kg. In einem anderen Versuche reicherte sich ein Boden in 11 Wochen pro Hektar für eine Schicht von 18 cm Dicke um 150 kg Stickstoff an.

Zum Vergleiche sei auch noch ein typischer, Luft und Regen im Freien ausgesetzter Topfversuch angeführt, in dem der Boden zum Unterschied von den bisher genannten Beispielen höhere Pflanzen und zwar *Amarantus* trug:

Stickstoffzufuhr:

Anfangsstickstoff in 50 kg Erde	54,09	g
N aus Regen	0,076	„
N aus atmosphärischem Ammoniak höchstens	0,053	„
N der eingepflanzten jungen Pflanzen	0,35	„
	54,57	g

Stickstofferernte:

Stickstoff der 50 kg Erde am Schluß	56,54	g
N durch Wasser weggeführt mindestens	0,403	„
N der Pflanzenernte	2,235	„
	59,18	g
Somit Stickstoffgewinn	4,61	g.

Diese Beobachtungen wurden durch andere, so z. B. durch Dehérain (2) und Tacke (1), bestätigt.

Da durch alle diese Untersuchungen sicher nachgewiesen ist, daß in Erde stickstoffbindende **niedere Organismen** vorkommen, galt es nun die **Natur derselben** näher zu ergründen. Erfolgreich war in dieser Richtung zunächst Winogradsky (1—4), der durch eine mustergültige Untersuchung die anaerobiotische Bakterienform *Clostridium Pastorianum* kennen lehrte, welche in stickstoffreier Nährlösung bei Gegenwart gewisser Kohlenstoffverbindungen kräftig freien Stickstoff assimiliert. Er fand diese Form, wenn er stickstoffreie Lösungen, welche 0,1 Proz. K_2HPO_4, 0,02 Proz. $MgSO_4$, 0,001—0,002 Proz. NaCl, $FeSO_4$ und $MnSO_4$ in kleinen Mengen und 2—4 Proz. Dextrose sowie Kreide enthielten, mit kleinen Mengen Erde aus dem Garten seines Petersburger Instituts impfte. Es trat dann häufig Stickstoffbindung und gleichzeitig Buttersäuregärung ein, wobei weißliche, kefirkornähnliche Flocken sich zeigten, die aus verschiedenen Bakterien bestanden. Durch die von Winogradsky auch bei anderer Gelegenheit mit so großem Erfolg angewendete elektive Kultur, d. h. wiederholtes Ueberimpfen des erwähnten Bakteriengemenges in frische Nährlösung der gleichen Zusammensetzung und schließlich

durch 10 Minuten langes Erhitzen der Kultur auf 75° gelang es, alle Bakterienformen bis auf drei zu entfernen, ohne daß Stickstoffbindung und Buttersäuregärung ausblieben. Unter diesen drei Formen findet sich ein *Clostridium* und zwei andere, welch letztere sich auf Agar reinkultivieren lassen, aber nicht in stickstoffreier Lösung wachsen. Die Reinkultur des *Clostridium* gelang schließlich auch auf Möhren- oder Kartoffelscheiben im Vakuum oder sauerstoffreiem Raum. *Clostridium* in Reinkultur wächst aber in stickstoffreien Lösungen nicht bei Luftzutritt, sondern nur im Stickstoffstrom, bindet in solchen Kulturen freien Stickstoff und erzeugt normale Buttersäure, Essigsäure, Kohlensäure und Wasserstoff.

Das auf diese Weise in Reinkultur gewonnene *Clostridium Pastorianum* assimiliert also freien Stickstoff und vermag dementsprechend in Lösungen zu wachsen, welche so sorgfältig als möglich von Stickstoffverbindungen befreit sind. Das *Clostridium* ist anaërobiotisch, wächst aber auch bei Luftzutritt in Gemeinschaft anderer Bakterien, die den Sauerstoff für sich verwenden. Die letztere, schützende Rolle spielen in den oben erwähnten Vorkulturen die beiden Bakterien, welche aber auch durch manche andere künstlich zugesetzte Bakterienform vertreten werden können.

Clostridium Pastorianum bildet in der Jugend 1,2—1,3 μ dicke Stäbchen, die 1,5—2 μ lang sind, sich später vor der Sporenbildung zu Spindeln aufblähen, in denen Jod in der für andere Buttersäurebakterien bekannten Weise intensiv violettbraune Färbung hervorruft, welche Eigenschaft während der Sporenbildung nach und nach verschwindet. Junge und ältere Individuen wurden nur manchmal schwärmend beobachtet. Eigentümlich für die in Rede stehende Form ist das Verhalten der Mutterzellmembran nach eingetretener Sporenreife. Zu dieser Zeit zeigt diese Membran nicht die sonst übliche Verquellung, sondern bleibt scharf konturiert und umgibt eine hyaline Substanz, welche die Spore einschließt und sich mit Anilinfarben kaum färbt. Nun wird wahrscheinlich durch die aufquellende hyaline Substanz die Membran der Mutterzelle an einem Pole gesprengt und weit geöffnet. Die reife, 1,6 μ lange, 1,3 μ breite Spore liegt jetzt in einem abgerundet dreieckigen Gallertpolsterchen, der Sporenkapsel, eingebettet, das an zwei Seiten scharfe, an der dritten, der Oeffnung, verwaschene Konturen zeigt. Diese Sporenkapseln, die für die beschriebene Art charakteristisch sind, sind auch in 7 Jahre altem Materiale noch sichtbar. Die Spore keimt polar und zwar stets an dem gegen die Sporenkapselöffnung liegenden Pole. Alle diese Verhältnisse zeigen *Fig. 4—7* auf Tafel *I* und die folgende nach WINOGRADSKY's Arbeit reproduzierte Abbildung.

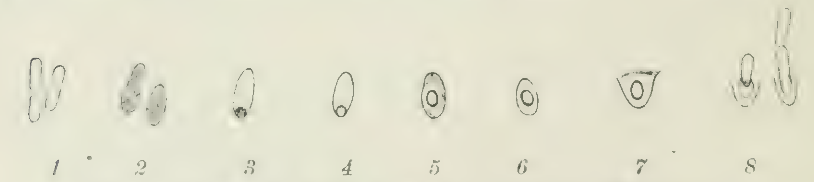


Fig. 1. Schema der Entwicklung des *Clostridium Pastorianum*.
1 Stäbchen, *2* Spindelbildung, *3—6* Sporenbildung, *7* Reife Spore in der charakteristischen Kapsel, *8* Sporenkeimung. Nach WINOGRADSKY.

Die **quantitativen Verhältnisse der** durch dieses *Clostridium* bewirkten **Stickstoffassimilation und Zuckervergärung** erläutert folgendes

Beispiel: 1 Liter der erwähnten stickstoffreien Lösung mit 40 g Dextrose mit Reinkultur des *Clostridium* besäet und im Stickstoffstrom gehalten, zeigte nach 20 Tagen einen Gesamtstickstoffgewinn von 53,6 mg; außerdem war der ganze Zucker verschwunden und 44,7 Proz. desselben zu 3,714 g Essigsäure und 14,164 g normaler Buttersäure vergoren. Daneben waren etwa $^1/_3$ ccm Alkohole, hauptsächlich Isobutylalkohol und Spuren von Milchsäure entstanden. Auch in anderen Fällen zeigte sich, daß immer auf 1 g vergorene Dextrose etwa 2 mg N assimiliert werden. In verschiedenen Versuchen schwankt das Verhältnis der flüchtigen Säuren stark. Ebenso ist im Verlaufe eines und desselben Versuches das Verhältnis der Mengen der gebildeten Gase CO_2 : H schwankend. Im allgemeinen nimmt während des Gärungsverlaufes die Kohlensäuremenge in dem Gasgemisch zu.

Von allen sonst bekannten Buttersäurebakterien unterscheidet sich *Clostridium Pastorianum* dadurch, daß erstere auch Stärke, Lactose, Mannit, Glycerin, Calciumlactat oder wenigstens einige dieser Körper vergären, während *Clostridium Pastorianum* nur Dextrose, Lävulose, Rohrzucker, Inulin, Galactose und Dextrin vergärt; auch bilden die anderen Buttersäurebakterien meist mehr Alkohol, besonders Butylalkohol.

Clostridium Pastorianum fand Winogradsky in Petersburg in jeder Erdprobe, in Paris eine sehr ähnliche Art; in Südrußland, Podolien, Wolhynien dagegen wurde nie die genannte oder eine ähnliche Form, sondern ein etwas größeres, mit Jod sich blaufärbendes *Clostridium* gefunden, dessen Reinkultur noch nicht gelang. Die Form scheint eine etwas von der beschriebenen abweichende Gärung zu veranlassen, bindet aber auch N und zwar auch auf 1 g vergorene Dextrose ca. 2 mg N. Eine größere Anzahl anderer Bakterien prüfte Winogradsky mit negativem Erfolg auf die Fähigkeit zur Assimilation von freiem N. Nur zwei mittels Kartoffelscheiben isolierte Formen hatten vielleicht schwache Befähigung in dieser Richtung.

Dagegen glaubt Beijerinck (1), daß die Zahl der freien Stickstoff assimilierenden niederen Organismen eine viel größere ist. Er meinte, daß alle Mikrobien, welche bei freier Konkurrenz mit der übrigen Mikrobienwelt sich in Nährsubstraten entwickeln, denen keine Stickstoffverbindungen absichtlich zugesetzt, die aber auch nicht von den letzten Spuren solcher Verbindungen gereinigt wurden, imstande sind, den freien atmosphärischen Stickstoff zu binden und zu ihrer Ernährung zu verwenden; er faßt diese Organismen unter dem Namen **Oligonitrophile** zusammen, denen **Meso-** und **Polynitrophile** nach der Abstufung des Bedürfnisses nach Stickstoffverbindungen gegenüberstehen.

Beijerinck erhält durch „Anhäufungsversuche“, die er im Licht hält, mit Chromophyll begabte Oligonitrophile, die im Lichte C aus der CO_2 der Luft beziehen können, während im Dunkeln bei Zusatz von Kohlenstoffnahrung farblose Oligonitrophile auftreten. Wenn er z. B. Leitungswasser mit 0,02 Proz. K_2HPO_4 im Lichte hielt, so wuchsen nach Impfung mit Erde Cyanophyceen, die er für befähigt hält freien Stickstoff zu assimilieren, ohne jedoch Beleganalysen darüber zu veröffentlichen. Die Beobachtung, daß nach Graebner sich in Heidemoore verwandelnde Sandflächen ebenso wie nach Treub die durch die vulkanischen Ausbrüche verwüstete Insel Krakatau zunächst sich mit Cyanophyceen bedecken, braucht zu ihrer Erklärung nicht die Annahme, daß Cyanophyceen freien Stickstoff assimilieren; denn es können sehr wohl in

jenen Böden stickstoffbindende Bakterien neben den Cyanophyceen unerkannt ihr Wesen getrieben haben.

Eingehendere Untersuchungen müssen daher die Frage entscheiden, ob Cyanophyceen freien Stickstoff zu ihrer Ernährung verwenden können oder nicht. Ueberhaupt genügt die Beobachtung, daß Organismen in stickstoffarmen Flüssigkeiten wachsen, nicht, um die Behauptung zu begründen, daß alle diese Formen freien Stickstoff assimilieren, denn es gibt viele Organismen, die in bezug auf Stickstoffnahrung quantitativ sehr genügsam sind. Nur wenn die Analyse einer Reinkultur Stickstoffzunahme zeigt, kann man von Bindung freien Stickstoffes durch den betreffenden Organismus reden.

In den im Dunkeln gehaltenen Kulturen Beijerinck's, die mit Erde geimpft wurden, trat, wenn Glucose als Kohlenstoffquelle zugesetzt wurde, bald *Clostridium Pastorianum* neben anderen Formen auf. Nahm man statt Glucose Mannit oder Kalium- oder Natriumpropionat, so herrschte meist ein auffälliger, großer Organismus, den Beijerinck *Azotobacter chroococcum* nennt, vor, der in allen untersuchten Böden, auch in Wiesen, in Blattdünger und Dünensand, nur nicht in Heidesand, von Beijerinck gefunden wurde. Dieser Organismus ist auf Agar, der mit 2 Proz. Mannit und 0,02 Proz. K_2HPO_4 hergestellt ist, leicht rein zu kultivieren und aus solchen Reinkulturen leitet Beijerinck folgende Gattungsdiagnose ab, welche durch *Fig. 1—3* der Tafel *I* ergänzt wird.

Azotobacter: Dicke, in der Jugend meist als Diplokokken oder Kurzstäbchen von 4—6 μ Dicke vorkommende Bakterien [1]), mit hyalinem, oft eine Vakuole führendem Inhalt und schleimiger Wand von sehr verschiedener Dicke. Jüngere Zustände mehr oder weniger beweglich vermittels einzelner oder in 4—10 zähligen Büscheln stehender polarer Geißeln, die ungefähr so lang sind wie die Bakterien selbst. Sporen fehlen. Assimiliert atmosphärischen Stickstoff. Bisher sind zwei Arten bekannt:

Azotobacter chroococcum: Erzeugt treibende Rohmembranen auf Leitungswasser mit 2 Proz. Mannit und 0,02 Proz. K_2HPO_4 bei Infektion mit Gartenerde. Nur wenige Individuen der jungen Kulturen bewegen sich und zwar mit einer einzelnen polaren Cilie. Junge Membranen entsprechen der Gattungsdiagnose, ältere bestehen aus Mikrokokken von wechselnder Größe, welche zu Sarcinapaketen vereinigt bleiben. Die älteren Zustände sind oft braun oder schwarz. Oxydiert zahlreiche Kohlenstoffverbindungen zu CO_2 und H_2O. Ist makroaërophil.

Azotobacter agilis: Allgemein im Kanalwasser in Delft gefunden. Roh- und Reinkultur wie bei voriger Art zu erhalten. Sehr stark beweglich durch Bündel polarer Cilien. Schöne große durchsichtige, an kleine Monaden erinnernde Bakterien, oft mit deutlich sichtbarer Wand, Protoplasma, Zellkern, Granula und Vakuolen. Wächst auf den verschiedensten Nährböden, besonders gut auf Leitungswasseragar mit 2 Proz. Glucose und 0,02 Proz. K_2HPO_4; kann mit organisch sauren Salzen einen grünen oder roten Farbstoff erzeugen, welcher weithin diffundiert.

In einer zweiten Arbeit, die Beijerinck mit van Delden (1) publizierte, widerruft er aber seine Angabe, daß *Azotobacter* freien Stickstoff assimiliere,

---

[1]) Benecke und Keutner (1) glauben, daß *Azotobacter* nicht den Bakterien sondern den Cyanophyceen zuzurechnen und vielleicht als farblose *Aphanocapsa* aufzufassen ist. Vorbehaltlich späterer Entscheidung dieser Frage sei hier einstweilen *Azotobacter* als Bakterienform aufgeführt.



Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Azotobacter chroococcum.
Junge Kultur von 24 Stunden auf Leitungswasser mit Kaliumphosphat, 2 Proz. Agar, 2 Proz. Glucose. Nur einzelne Individuen bewegen sich. Vergr. 1000. Nach dem Leben phot.

Fig. 2. Azotobacter agilis.
Kultur auf H_2O-Phosphat-Glucose-Agar 2 Tage alt. Im Protoplasma ist der Zellkern sichtbar, sowie Vakuolen und Granula, in einzelnen sich teilenden Zellen die Kernspindel. Vergr. 1000. Nach dem Leben phot.

Fig. 3. Azotobacter agilis.
Cilienfärbung. Photographie nach einem Präparate von Herrn Prof. Zettnow, Berlin. Die Cilien meistenteils zu polaren Bündeln angeordnet. Vergr. 1000.

Fig. 4. Clostridium Pastorianum.
Kurze, sich lebhaft teilende längere, bereits zu Spindeln anschwellende, mit hellerem körnigen Inhalt, schließlich auch ein polar gestelltes, sporogenes Korn tragendes Stäbchen.

Fig. 7. Clostridium Pastorianum.
Sporenkeimung. Das Keimstäbchen ist bereits aus der Sporenwand hervorgetreten, steckt aber noch in der Sporenkapsel.

Fig. 5. Clostridium Pastorianum.
Sporentragende Spindeln.

Fig. 6. Clostridium Pastorianum.
Ruhende Sporen mit der charakteristischen Sporenkapsel, daneben verschiedene Keimungszustände.

Fig. 1—3 und Erklärung nach Beijerinck.
Fig. 4—7 „ „ „ Winogradsky.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Crayondruck von J. B. Obernetter, München.



daß aber Stickstoffbindung eintritt wenn er in Symbiose mit *Granulobacter*, *Aerobacter aerogene*, einer allbekannten Form, oder einer neuen formenreichen Art *Bacillus radiobacter* lebt. Alle Arten der Gattung *Granulobacter*, sowohl die aërobiotischen wie die anaërobiotischen, zu denen Winogradsky's *Clostridium* gehört, vermögen an und für sich schon freien Stickstoff zu binden, doch zeigen sie erst in Symbiose mit *Azotobacter* diese Fähigkeit in Vollendung. Dagegen kann weder *Aerobacter aerogene* noch *Bacillus radiobacter* allein Stickstoff assimilieren; sie erlangen diese Fähigkeit aber bei der Symbiose mit *Azotobacter*.

Daraus, daß die Anzahl der *Granulobacter*-Stäbchen, welche in den Kulturen genügen um ein üppiges Wachstum von *Azotobacter* hervorzurufen, so gering sein kann, daß sie mikroskopisch schwierig zu finden sind, folgern Beijerinck und van Delden, daß aus dem freien Stickstoff zuerst eine in die Flüssigkeit außerhalb der erzeugenden Bakterien diffundierende Verbindung entsteht, die dann von anderen Bakterien und auch von *Azotobacter* aufgenommen werden kann. Dieses Gesetz, welches die Verfasser selbst für das Hauptresultat ihrer Arbeit halten, soll auch für *Radiobacter* und *Aerogenes* gelten und die alte Theorie, daß das Bakterieneiweiß das erste nachweisbare Stickstoffassimilationsprodukt sei, beseitigt werden.

Diese Hypothesen über die Beziehungen des *Azotobacter* zur Stickstoffixierung sind deshalb so kompliziert, weil ihre Grundlage unrichtig ist. Tatsächlich vermag, wie ich (1) in Gemeinschaft mit Kröber feststellte, ein Organismus, den wir aus Göttinger Boden in Reinkultur gewannen und der von Beijerinck selbst als *Azotobacter chroococcum* anerkannt wurde, sehr wohl freien atmosphärischen Stickstoff zu assimilieren, und Reinkulturen dieser Form in der Beijerinck'schen Mannitnährlösung erhöhten pro Liter in unseren damaligen Versuchen ihren Stickstoffgehalt um 40—56 mg. Schon vorher und vor dem Erscheinen der von Beijerinck mit van Delden publizierten zweiten Arbeit hatten Vogel und Gerlach (1) angegeben, daß von Vogel aus verschiedenen Böden rein kultivierte Bakterien, welche „höchstwahrscheinlich der von Beijerinck mit dem Namen *Azotobacter* bezeichneten Gruppe angehören“ bis zu 18 mg N pro Liter Nährlösung binden. Die Richtigkeit meiner Angaben über die Stickstoffbindung durch *Azotobacter chroococcum* wurde dann später dadurch bestätigt, daß Gerlach und Vogel (2) mitteilten, sie hätten sich durch Vergleich mit einer Beijerinck'schen Originalkultur davon überzeugt, daß ihre Bakterien wirklich *Azotobacter chroococcum* seien. Und Freudenreich (1) hat später auch gezeigt, daß der von ihm in der Schweiz verbreitet gefundene *Azotobacter* Stickstoff assimiliert.

Bezüglich des **Verlaufes der Bindung freien Stickstoffs** ist zunächst zu bemerken, daß die dazu befähigten Organismen den freien Stickstoff zu ihrer **Ernährung** verwenden, daß also die Endprodukte des ganzen Prozesses stickstoffhaltige Verbindungen der Körpersubstanz der betreffenden Organismen sind. Welche Zwischenprodukte auf dem Wege dieser Stickstoffassimilation entstehen, ist nicht näher untersucht. Da *Clostridium Pastorianum* als Gärungsprodukt Wasserstoff erzeugt, hat Winogradsky es als wahrscheinlich bezeichnet, daß dieser Wasserstoff in *statu nascendi* sich vielleicht im Plasma des *Clostridium* zuerst mit dem freien Stickstoff zu Ammoniak verbinde. Reinke (1) hält dafür, daß bei allen stickstoffbindenden Organismen in dieser Weise zuerst Ammoniak entstehe und betont, daß so der Stickstoff gleich mit Wasserstoff als demjenigen Elemente verbunden werde, an welches er auch im

Eiweißmolekül gebunden sei. GERLACH und VOGEL (2) glauben, daß in den Zellen der stickstoffbindenden Bakterien Stickstoff an organische Kohlenstoffverbindungen angelagert wird und so Eiweiß entsteht; sie weisen dabei darauf hin, daß es jetzt der Chemie gelungen sei, durch
5 derartige Anlagerung amidartige Körper künstlich herzustellen.

GAUTIER und DROUIN (3) glauben, daß Mikroorganismen Stickstoff durch Oxydation binden. Andrerseits hat LOEW (zitiert nach BREDIG [1]) darauf hingewiesen, daß feuchtes Platinmohr in Berührung mit Luft Spuren von Ammoniumnitrit bildet und daß die Bakterien wohl in
10 ähnlicher Weise den Stickstoff assimilieren. Bestände eine solche Analogie wirklich, so könnte die moderne Anschauung von der Aehnlichkeit der Eigenschaften der Metallsole mit denen der Enzyme zu Versuchen führen, stickstoffbindende Enzyme aus Bakterien zu isolieren. HILTNER (s. nächstes Kapitel) deutet an, ermutigende Resultate bei solchen Versuchen mit
15 Knöllchenbakterien erhalten zu haben.

Ob auch **andere Bakterien** außer *Clostridium Pastorianum* und *Azotobacter* freien Stickstoff binden können, steht zurzeit nicht fest. Da aber der freie Stickstoff von den in Rede stehenden Organismen wohl nur als Nährstoff verwendet wird, so wird analytisch die Stickstoff-
20 bindung um so leichter und an einer um so geringeren Zellenzahl nachweisbar sein, je stickstoffreicher die Zelle des betreffenden Organismus ist, und dies kann der Grund sein, warum noch nicht für eine größere Anzahl von Organismen die Fähigkeit zur Bindung freien Stickstoffs nachgewiesen werden konnte. Daß *Azotobacter* in dieser Hinsicht eine
25 sehr günstige Form sei, muß jedem auffallen, der *Azotobacter* einmal mit Jod gefärbt unter dem Mikroskop beobachtet und sich so von dem Reichtum an Eiweißkörpern im Innern der Zelle überzeugt hat. GERLACH und VOGEL (2) haben dies sogar durch eine chemische Analyse bewiesen und gezeigt, daß trockene *Azotobacter*-Kolonien bis 80 Proz.
30 Eiweiß und 10—12 Proz. Stickstoff enthalten. Für *Clostridium* liegt eine solche Analyse noch nicht vor. Möglich ist es jedenfalls, daß unter den in ihrer Körpersubstanz prozentisch stickstoffärmeren Organismen auch solche sind, welche freien Stickstoff als Nährstoff verwenden können, nur wird man dies mit unseren jetzigen Methoden nur dann sicher nach-
35 weisen können, wenn man erheblich größere Mengen von Material analysiert, als dies jetzt üblich ist. Dies gilt natürlich nicht nur von Bakterien sondern auch von anderen Organismen. Für zwei Bodenbakterien, die er auf Ton mit Huminsäure, Weinsäure, Zucker und COHN'scher oder ähnlicher Nährlösung versetzt kultivierte, gibt BERTHE-
40 LOT an, Stickstoffixierung beobachtet zu haben und zwar beobachtete er bei Reinkulturen höchstens eine Erhöhung des anfänglichen Stickstoffgehaltes um 80 Proz. (von 10,2 auf 18,6 bei der mit *A* bezeichneten Bakterienform). WINOGRADSKY (3) bezweifelt aber die Richtigkeit dieser Beobachtung, weil er, wie oben bemerkt, die Fähigkeit zur Stickstoffbin-
45 dung unter zahlreichen untersuchten Bakterienformen außer bei *Clostridium* nur in zwei Fällen und auch da nur sehr schwach ausgeprägt fand. Die Ueberzeugung, daß es noch andere, vielleicht sogar stärker als die bisher bekannten stickstoffixierende Bakterien gibt, könnte aus der Beobachtung abgeleitet werden, daß Bodenbakteriengemische in stick-
50 stoffarmen Nährlösungen meist stärker freien Stickstoff binden als Reinkulturen von *Clostridium* oder *Azotobacter*. Jedoch kann dies auch daher rühren, daß die stickstoffixierenden Bakterien dieser Gemische, in denen *Clostridium* und *Azotobacter* nie vermißt werden, von anderen beigemengten

Bakterien in ihrer Lebenstätigkeit irgendwie günstig beeinflußt werden. Andrerseits gelingt es durch Verbesserung der Kulturbedingungen, auch Reinkulturen von *Azotobacter* zu wesentlich stärkerer Stickstoffbindung zu bringen. Bodenbakteriengemische fixierten in BEIJERINCK's Versuchen beispielsweise bis 139 mg Stickstoff pro Liter Kulturflüssigkeit, während FREUDENREICH (1), wenn er Gipsplatten, mit wenig Nährlösung befeuchtet, zu *Azotobacter*-Kulturen verwendete und dieser Form auf diese Weise reichliche Luftzufuhr verschaffte, pro Liter Nährlösung bis 160 mg Stickstoffzunahme beobachtete. Wir kultivieren einfacher *Azotobacter* auf dünnen Mannitkaliumphosphatagarschichten und erreichen so jetzt leicht auch eine Stickstoffbindung von 180 mg per Liter Agar. Es kann also sein, daß in den Bakteriengemischen, die in den bisher benutzten Nährlösungen wachsen, keine stärker Stickstoff assimilierende Bakterienform wie *Azotobacter* und *Clostridium* enthalten ist. Bezüglich der Stickstoffbindung durch außerhalb der Leguminose kultivierte Knöllchenbakterien siehe das nächste Kapitel.

In Anbetracht der Frage, ob auch **Angehörige anderer Gruppen des Pflanzenreiches** freien Stickstoff zu ihrer Ernährung verwenden können, herrscht zunächst bezüglich der **Pilze** (*Eumyceten*) keine völlige Klarheit. BERTHELOT (1) gibt freilich an, daß er Stickstofffixierung in Kulturen von *Aspergillus niger*, *Alternaria tenuis* und *Gymnoascus* beobachtet habe, aber von diesen war nur die *Alternaria*-Kultur sicher rein und diese fixierte Stickstoff bis 98 Proz. des Anfangsgehaltes der Nährlösung. WINOGRADSKY hat dann bei einem *Aspergillus* keine Stickstoffbindung feststellen können, während PURIEWITSCH (1) dem *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum* diese Fähigkeit zuspricht. Er kultivierte diese Pilze in einer Lösung, welche auf 100 ccm Wasser 0,4 g KH_2PO_4, 0,4 g $CaCl_2$, 0,2 g $MgSO_4$, 3 g Weinsäure, verschiedene Mengen Rohrzucker und etwas Ammoniumnitrat enthielt; die Lösungen wurden sterilisiert und außerdem zur sicheren Fernhaltung von Bakterien noch mit Phosphorsäure versetzt. Die beobachteten Stickstoffzunahmen zeigt die folgende Tabelle:

Objekt	Zunahme des N-Gehaltes der Nährflüssigkeit g	Zucker der Nährflüssigkeit Proz.	Trockensubstanz der Schimmelpilze
Aspergillus niger	0,00414	20	
	0,00306	20	
	0,00318	20	
Aspergillus niger	0,0015	25	
	0,0021	25	
	0,0028	25	
	0,0037	25	
	0,0044	25	
Penicillium glaucum	0,0022	25	
	0,0020	25	
	0,0034	25	
	0,0035	25	
	0,0052	25	

Objekt	Zunahme des N-Gehaltes der Nährflüssigkeit g	Zucker der Nährflüssigkeit Proz.	Trockensubstanz der Schimmelpilze g
Aspergillus niger	0,0022	5	0,303
	0,0047	10	0,518
	0,0065	20	0,691
	0,0069	30	0,708
	0,0027	5	0,320
	0,0043	10	0,500
	0,0049	20	0,711
	0,0084	30	0,802

Saida (1) hat diese Beobachtungen Puriewitsch's neuerdings bestätigt und erweitert, indem er fand, daß *Aspergillus niger*, *Mucor stolonifer*, *Endococcus purpurascens* und *Phoma betae* freien Stickstoff assimilieren, andere Pilze (*Acrostalagmus cinnabarinus*, *Monilia variabilis*, *Fusisporium moschatum*) dagegen nicht. Die Stickstoffzunahme in 50 ccm Nährlösung erhob sich dabei meist nur auf 1—2 mg, bei *Phoma* aber bis 10,5. Andere und auch wir haben gelegentlich Puriewitsch's und Saida's Resultate bei Nachprüfung nicht bestätigt gefunden. Meines Erachtens darf daraus aber nicht ohne weiteres gefolgert werden, daß Puriewitsch und Saida sich geirrt hätten oder mit unreinen Kulturen gearbeitet hätten, denn auch bei *Azotobacter* findet man, besonders wenn man längere Zeit in Kultur befindliches Material zur Aussaat verwendet, oft nur schwache oder gar keine Stickstoffbindung, wodurch auch Beijerinck's negatives Resultat sich erklären dürfte. Es ist nicht ausgeschlossen, daß in ähnlicher Weise Pilze bald Stickstoff binden, bald nicht.

Die weitere Frage, ob **Algen** freien Stickstoff binden können, ist eine Zeitlang nachdrücklich bejaht worden. Frank (1) zeigte zuerst, daß Sand der vom Lichte getroffen wird und sich mit Algen bedeckt, merklich sich mit Stickstoff anreichert, während dunkel gehaltener Sand dies nicht tut. Frank folgert daraus, daß Algen freien Stickstoff binden, und diese Ansicht wurde scheinbar bestätigt durch mit großem Aufwand von experimentellem Geschick durchgeführte elegante Untersuchungen von Schloesing und Laurent (1 u. 2), welche nicht nur indirekt die eintretende Stickstoffanreicherung des Versuchsbodens bestimmten, sondern direkt gasanalytisch das Verschwinden von freiem Stickstoff aus dem in dem Versuchsgefäß befindlichen Gasgemisch feststellten. Sie fanden einerseits, daß wenn im Boden Hafer oder andere Gramineen, *Brassica* oder Kartoffeln kultiviert wurden, keine Stickstofffixierung aus der Luft stattfand, wenn der Boden durch Bedeckung mit Sand verhindert wurde, sich mit Algen zu bedecken, während Stickstoffbindung eintrat, wenn auf dem Boden sich Moose und Algen entwickelten. Versuche mit möglichst reinen Algenvegetationen in unsterilisiertem Boden ohne Aussaat von höheren Pflanzen ergaben ebenfalls mit einer Ausnahme starke Stickstoffbindung, während die fast ohne Algen gebliebenen Kontrollversuche und der mit Moosen bepflanzte keine Stickstoffzunahme zeigten. Die ganze Menge des gebundenen Stickstoffes fand sich in der obersten, einige Millimeter dicken Bodenschicht. Schloesing und Laurent folgern hieraus, daß es niedere grüne Organismen gibt, die freien atmosphärischen Stickstoff assimilieren. Um die Berechtigung dieses Schlusses zu prüfen, war es vor allem notwendig, entsprechende Ver-

suche mit Algenreinkulturen unter Ausschluß von Bakterien anzustellen. Solche Versuche führte auf meine Veranlassung Kossowitsch (1) durch und zeigte, daß ein *Cystococcus* in ganz reiner Kultur und *Stichococcus*, dessen Kultur noch Bakterien und Schimmelpilze enthielt, keinen Stickstoff banden. Kossowitsch fand aber starke Stickstofffixierung, wenn er die Algen mit Bodenbakteriengemisch zusammen kultivierte. Er glaubt danach, daß die ihrerseits zur Stickstofffixierung unfähigen Algen bei diesem Prozesse eine indirekte Rolle spielen, indem sie den stickstoffassimilierenden Bakterien Kohlenhydrate liefern, welche sie im Lichte durch Assimilation bilden. Auf diese Ansicht, deren Richtigkeit heute wohl allgemein anerkannt wird, komme ich unten nochmals zurück. Hier sei nur noch bemerkt, daß Krüger und Schneidewind (2) das Resultat von Kossowitsch, daß die Algen keinen freien Stickstoff assimilieren, durch Untersuchung einer größeren Anzahl von reinkultivierten Algenformen aus den Gattungen *Stichococcus*, *Chlorella* und *Chlorothecium* bestätigten und erweiterten. Hier ist indessen daran zu erinnern, daß *Azotobacter* vielleicht eine Cyanophycee ist. (S. oben S. 8 Anm.)

Von mehreren Seiten ist endlich die Ansicht vertreten worden, daß auch die **höheren grünen Pflanzen** zur Stickstoffassimilation befähigt wären. Frank besonders vertrat den Standpunkt beharrlich, daß die Assimilation des freien Stickstoffs vermutlich eine allgemeine Eigenschaft des pflanzlichen Protoplasmas sei. Liebscher (1) für Hafer und Senf und *Stoklasa* (1) stimmen ihm bei und Versuche von Petermann (1) über Gerste, von Atwater und Woods (1) mit Hafer und Roggen und von Bréal (1) für *Tropaeolum* scheinen seine Ansicht zu bestätigen. Zahlreiche andere Untersuchungen, wie von Pfeiffer und Franke (1), von Kowerski (1), Aeby (1) und Lotsy (1) für Senf, von Coates und Dodson (1) für Baumwolle, von Day (1) für keimende Gerste, von Nobbe und Hiltner (1) und von Richter (1) für andere Pflanzen haben zu dem Resultat geführt, daß die höheren Pflanzen (mit Ausnahme der im nächsten Abschnitt zu besprechenden Leguminosen) keinen freien Stickstoff assimilieren und somit die Richtigkeit der älteren klassischen Untersuchungen von Boussingault (1) und Hellriegel (1) nicht erschüttert ist. Höchst wahrscheinlich sind Frank und seine oben genannten Nachfolger dadurch getäuscht worden, daß sie keine Rücksicht auf die Tätigkeit der in den unsterilisierten Versuchsböden vorhandenen stickstoffassimilierenden Bakterien nahmen und den von diesen gebundenen Stickstoff als von den höheren Pflanzen assimiliert ansahen und in Rechnung stellten. Jedenfalls geben Frank selbst, dann Nobbe und Hiltner, wie auch Richter ausdrücklich an, daß die Böden während der Versuche stickstoffreicher geworden seien. Näher kann auf diese Frage hier nicht eingegangen werden und sei der Leser im übrigen auf Pfeffer's Pflanzenphysiologie, Bd. I, S. 386 verwiesen. Hervorgehoben sei aber, daß auch die meisten der gegen eine Stickstoffassimilation der höheren Pflanzen sprechenden Versuche entweder in unsterilisierten oder in zwar sterilisierten aber mit Bodenaufguß oder in ähnlicher Weise geimpften Böden angestellt sind und daß solche Versuche nie ein völlig klares Bild über das Verhältnis der höheren Pflanze zum freien Stickstoff geben können, weil unsterilisierte Böden durch Bakterientätigkeit Stickstoff gewinnen oder verlieren können. Indessen hat Petermann (2) gezeigt, daß Gramineen in sterilisierten Böden keinen Stickstoff binden, während freilich Stoklasa (1) andrerseits das Gegenteil in sterilisierten und auch angeblich steril gebliebenen Böden beobachtet haben will.

§ 3. Bedingungen der Stickstoffassimilation durch niedere Organismen.

Die wichtige Fähigkeit der Assimilation freien Stickstoffs ist also bisher nur für einige Bakterien sicher bewiesen. Teils durch Untersuchungen an Reinkulturen dieser Formen, teils durch Beobachtungen über die Stickstoffbindung im natürlichen Boden sind nun auch schon eine Reihe von Anhaltspunkten über die Bedingungen der Stickstoffassimilation durch niedere Organismen gewonnen worden.

Bezüglich der **Ernährung** des *Azotobacter* **mit anorganischen Stoffen** zeigen zunächst Gerlach und Vogel (3), daß Kalk und Phosphorsäure unentbehrlich seien, Kali und Natron aber fehlen können, obwohl Gegenwart eines der letzten beiden Stoffe Wachstum und Stickstoffassimilation des *Azotobacter* begünstigt. Freilich hat Berthelot andrerseits angegeben, daß gerade kalireiche Böden vorzugsweise Stickstoff binden; vielleicht sind aber solche Böden weniger wegen ihres Kalireichtums als wegen ihrer physikalischen Beschaffenheit günstig für stickstoffbindende oder ungünstig für stickstoffentbindende Organismen.

Weiter ist sicher, daß das Maß der Entwicklung der stickstoffbindenden Organismen und die Menge des von ihnen assimilierten Stickstoffs durch die Menge der verfügbaren **Kohlenstoffnahrung** bestimmt wird.

Daß kohlenstoffhaltige Substanz für die stickstoffbindenden Organismen notwendig ist, wurde schon früh erkannt. Gautier und Drouin (3) stellten z. B. Versuche mit künstlich zusammengesetztem Boden, der Holzkohle und Humus aus Zucker bereitet enthielt, an und fanden nur bei Gegenwart solcher kohlenstoffhaltiger Substanzen Stickstoffbindung.

Aehnliche Resultate erhielt Berthelot (1) mit Zusatz von Humus aus Erde oder Zucker. Berthelot und später Kossowitsch (1) stellten auch fest, daß ein Zusatz von Zucker zu Erde oder Sand die Stickstoffbindung begünstigt. Durch die Untersuchungen an Reinkulturen von *Clostridium Pastorianum* durch Winogradsky, desgleichen von *Azotobacter* durch Gerlach und Vogel, von höheren Pilzen durch Puriewitsch ist weiter bewiesen, daß die Menge des gebundenen Stickstoffes in einem gewissen Verhältnis zur verbrauchten Menge an kohlenstoffhaltiger Nahrung steht, welche in diesen Fällen Glucose oder Rohrzucker war. So fand Winogradsky durch *Clostridium* auf 1 g verbrauchten Zucker etwa 1,5—1,8 mg N gebunden. Gerlach und Vogel beobachteten, daß *Azotobacter* mit bis zu einer gewissen Grenze steigenden Glucosegaben steigende Stickstoffmengen assimilierte. Sie fanden bei Versuchen, welche enthielten

per	Liter	1	g	Glucose	7,4	mg	N-Zunahme
"	"	2	"	"	13,5	"	"
"	"	3	"	"	17,3	"	"
"	"	4	"	"	31,4	"	"
"	"	5	"	"	39,4	"	"
"	"	5	"	"	45,9	"	"
"	"	7	"	"	59,9	"	"
"	"	10	"	"	91,4	"	"
"	"	12	"	"	127,9	"	"
"	"	15	"	"	62,9	"	"

In Versuch 1—9 war nach 5 Wochen die Glucose ganz verschwunden, so daß in diesen Versuchen im Mittel auf 1 g verbrauchte

Glucose 8,9 mg N gebunden war. Das ist also eine erheblich bessere Leistung als sie durch *Clostridium Pastorianum* in Winogradsky's Kulturen erzielt war. Eine ähnliche Beziehung fand Puriewitsch für Schimmelpilze, wie seine oben zitierten Zahlen zeigen.

Eine solche **Abhängigkeit der gebundenen N-menge von der verbrauchten Zuckermenge** und das Mißverhältnis zwischen beiden wird verständlich, wenn man annimmt, daß die Hauptmenge des verschwindenden Zuckers oder anderer Kohlenstoffquellen, des Mannits z. B. bei *Azotobacter*, zur Energieproduktion verwendet wird. Das anaerobiotische *Clostridium* gewinnt Energie durch die Umsetzung des Zuckers, bei welcher Buttersäure, Essigsäure, Kohlensäure und Wasserstoff entstehen; *Azotobacter* oxydiert nach Beijerinck zahlreiche Kohlenstoffverbindungen zu Kohlensäure und Wasser. Von Interesse ist in dieser Beziehung die Bemerkung von Saida, daß *Phoma* in stickstoffarmen Lösungen mehr Kohlensäure produzierte als in stickstoffreicheren, in welchen sie freien Stickstoff nicht assimiliere. Für die Bindung freien Stickstoffes scheint demnach mehr Energie notwendig zu sein.

Die hiernach nötigen Kohlenstoffverbindungen liefern in der freien Natur den stickstoffbindenden Bakterien die grünen, im Lichte kohlenstoffassimilierenden Pflanzen.

Hiermit dürfte nach Kossowitsch's Vorgang, wie bemerkt, auch die durch Schloesing und Laurent und durch andere klar bewiesene **Bedeutung der Algen** für die Stickstoffbindung im Boden ihre Erklärung gefunden haben und man braucht nicht, wie Gautier und Drouin früher wollten, anzunehmen, daß die Algen nur dadurch für die Stickstoffanreicherung des Bodens wichtig sind, daß sie Ammoniak speichern und so verhindern, daß Stickstoff in Form von Ammoniak entweicht.

Daß von Algen besiedelte und vom Lichte getroffene Bodenschichten in vielen Fällen der Sitz der Stickstofffixierung sind, zeigte z. B. Hellriegel, als er in seinen Untersuchungen über den Stickstoffbedarf der Gerste sich die Frage vorlegte, ob seine Versuchspflanzen, die in mit Sand gefüllten Glasgefäßen wuchsen, wohl auch aus der Luft und nicht nur durch die Düngung Stickstoff erhalten hätten. Er fand, daß die vom Lichte getroffenen Sandschichten Algenvegetation zeigten und sich merklich mit Stickstoff angereichert hatten, daß dies aber sofort unterblieb, wenn von den Seiten des Glasgefäßes oder der Oberfläche der Sandschicht das Licht abgehalten wurde. In den belichteten Gefäßen wurden bis 50 mg N pro 4 kg Sand und in den belichteten äußersten Schichten auf 100 g Sand bis 3 mg N gebunden. Schloesing und Laurent fanden auch in ihren schon oft zitierten Versuchen, daß die ganze Menge des assimilierten Stickstoffs sich in der obersten, nur wenige Millimeter dicken Bodenschicht fand, die vom Lichte getroffen wurde und von Algen bedeckt war. Ganz dasselbe Resultat erhielten unfreiwillig Dehérain und Demoussy (1), als sie *Lupinus angustifolius* in Sand in Töpfen kultivierten. Einzelne Pflanzen entwickelten sich ganz gut ohne Knöllchen zu bilden, und eine enthielt z. B. in der Erntesubstanz 93 mg N, während im Samen nur 8,7 mg gefunden wurde. Der in der Aussaat vorhandene Stickstoff hatte sich also auf mehr als das Zehnfache vermehrt. Dieses auffallende Ergebnis fand seine Erklärung darin, daß die obersten belichteten Schichten des Sandes, in denen sich Algen entwickelt hatten, 80 mg N pro 100 g Sand, die unteren nur 4 mg am Schlusse des Versuches enthielten. Auf Grund der anderweitig festgestellten Tatsachen müssen wir auch hier annehmen, daß in den be-

lichteten Sandschichten stickstoffbindende Organismen tätig waren und die Algen sie mit kohlenstoffhaltiger Nahrung versorgten.

In stickstoffarmen Substraten werden die Algen dabei auch von den Bakterien mit Stickstoff ernährt werden. So fand Bouilhac (1) im Anschluß an die Beobachtung von Kossowitsch, wonach *Cystococcus*-Kulturen bei Zusatz von Bodenbakterien Stickstoffassimilation zeigten, daß *Nostoc punctiforme* in stickstoffreien Lösungen bei Gegenwart von Bodenbakterien wächst und ein solches Gemenge kräftig Stickstoff bindet. Es gilt dies aber nicht für alle Algen, denn mit *Schizothrix lardacea* und *Ulothrix flaccida* gelang der Versuch nicht. Dementsprechend muß die von Reinke (1 u. 2) aufgestellte Meinung, daß die stickstoffbindenden Bakterien, speziell auch *Azotobacter* und *Clostridium*, die Benecke und Keutner im Schlamm und Plankton der Kieler Föhrde fanden, von wesentlicher Bedeutung für die Stickstofternährung der Algen in der See und im süßen Wasser sind, noch experimentell in der Richtung ausgebaut werden, ob und welche Algen direkt von den Bakterien Stickstoff beziehen können. Von großem Interesse ist jedenfalls die von Reinke mitgeteilte Beobachtung Keutner's, daß auf großen Algen, wie *Laminaria flexicaulis*, *Fucus serratus*, *Hydrolapathum sanguineum* und anderen, *Azotobacter* in solcher Menge vorkommt, daß man ihn direkt mikroskopisch in dem abgekratzten Schleime nachweisen kann.

Aufzuklären bleibt, in welcher Weise die Algen Stickstoff von den Bakterien beziehen, ob sie dieselben direkt verdauen, was Reinke nicht wahrscheinlich dünkt, oder sich dabei der Vermittlung anderer Bakterien bedienen. Die Reinke am meisten zusagende Hypothese, daß die Bakterien weit mehr Ammoniumverbindungen aus freiem Stickstoff bilden, als sie selbst brauchen und die Algen diesen Ueberschuß aufnehmen, erscheint mir wenig wahrscheinlich, weil die Bakterien offenbar nur mit großem Kraftaufwand freien Stickstoff assimilieren.

Nach dem Gesagten könnte es scheinen, als ob für die Tätigkeit der stickstoffbindenden Organismen Gegenwart von Algen und Licht unbedingt notwendig wäre. Wie Berthelot gegenüber Schloesing und Laurent (2) mit Recht hervorhebt (vgl. die Diskussion über Schloesing und Laurent's Mitteilung in der Pariser Akademie), ist dies nicht richtig, sondern der erwähnte Prozeß geht auch im Dunkeln im Boden vor sich. Als Kohlenstoffquelle für die stickstoffbindenden Organismen müssen dann die kohlenstoffhaltigen Verbindungen im Boden, Pflanzenreste usw. dienen. Nicht ausgeschlossen erscheint, daß in solchen Fällen auch die im Dunkeln aus Kohlensäure Kohlenstoff beziehenden nitrifizierenden und die von Beijerinck beschriebenen in dieser Richtung kräftigeren, als Kohlenstoffquelle einen hypothetischen Bestandteil der Luft benutzenden oligokarbophilen Bakterien und ähnliche die stickstoffbindenden Organismen unterstützen.

Die Stickstoffbindung im nicht belichteten Boden zeigen folgende Zahlen Berthelot's:

Gehalt des Bodens pro Kilo an organischem N	0,0833 g
„ „ „ „ „ „ Nitrat-N	0,0077 „
	Sa. 0,0910 g

	Zunahme des Bodens pro Kilo	im Licht	im Dunkeln
30. April bis 6. Juli	an organischem Stickstoff	0,0964 g	0,0879 g
	an Nitratstickstoff	0,0015 „	0,0046 „
		Sa. 0,0979 g	0,0925 g

6. Juli bis 10. Oktober	an organischem Stickstoff	0,1222 g	0,1022 g
	an Nitratstickstoff	0,0067 „	0,0077 „
	Sa.	0,1289 g	0,1099 g
	Gesamtzunahme an Stickstoff	0,0379 g	0,0189 g

Der Prozeß der Stickstoffbindung im Boden geht nicht nur nicht aus- 5 schließlich in den belichteten Bodenschichten vor sich, sondern Berthelot erwähnt, daß dieser Prozeß sich in der ganzen 45 cm dicken Bodenschicht seiner Versuchsgefäße mit gleicher Intensität abspielte. Jedenfalls kommen stickstoffbindende Bakterien noch viel tiefer im Boden vor; wir fanden sie im Ackerboden noch bei 80 cm Tiefe, und Freuden- 10 reich stellte fest, daß *Azotobacter* noch 50 cm unter der Erdoberfläche zu finden ist. In an Kohlenstoffverbindungen sehr armen Böden wird der Einfluß der Algen und der Belichtung auf die Stickstoffbindung besonders klar hervortreten; begünstigt wird dieser Prozeß aber gewiß durch die erwähnten Einflüsse in allen Böden. Und so findet der alte 15 Glaube der Landwirte seine Begründung, wonach ein Auftreten von Algen und ähnlichen grünen Organismen das sicherste Zeichen für eine gute Gare des Ackers ist und die beste Gewähr für ein gutes Gedeihen der nachfolgenden Saat bietet. Vgl. S. 21, Anm. 2.

Bezüglich des Einflusses der Gegenwart von **Stickstoffverbindungen** 20 auf das Wachstum der freien Stickstoff bindenden Bakterien sind alle Autoren darin einig, daß die Stickstoffbindung herabgesetzt wird, wenn erhebliche Mengen von Stickstoffverbindungen vorhanden sind. Berthelot sagt direkt, Vorbedingung für Stickstoffbindung sei ein stickstoffarmer Boden. Tacke (1) und auch Immendorff (1) beobachteten aber auch 25 in stickstoffreichen Böden Stickstoffbindung. *Clostridium Pastorianum* wächst in stickstoffreichen Substraten, z. B. in Bouillon, kaum, auf Gelatine gar nicht. *Azotobacter* entwickelt sich auf Fleischinfusgelatine nicht immer, in Bouillon nach Gerlach und Vogel nicht.

Andrerseits wird das Wachstum des *Azotobacter* nach Beijerinck 30 durch Gegenwart kleiner Mengen von Stickstoffverbindungen sehr gefördert. Besonders Nitrate wirken selbst in Konzentrationen von 1 p. m. günstig, weniger Ammonsalze und Asparagin; Pepton wird sehr schwierig verbraucht. Auch *Clostridium Pastorianum* ist, trotzdem es nach Winogradsky (2) angepaßt ist, bei Abwesenheit von Stickstoffverbindungen 35 zu wachsen und in reichlich mit Pepton oder anderen Stickstoffverbindungen versetzten Nährlösungen degeneriert, doch in seinem Geschmack hinsichtlich verschiedener Stickstoffverbindungen wohl differenziert. So vergärt es bei Peptonzusatz Dextrose, Rohrzucker, Lävulose, Inulin, Galactose und Dextrin, nicht aber Milchzucker, Arabinose, Stärke, 40 Gummi, Mannit, Dulcit, Glycerin, Calciumlactat. Dagegen vergärt es bei Gegenwart von Ammon von allen diesen Körpern nur Dextrose, Rohrzucker, Inulin.

Bezüglich der Abhängigkeit der Intensität der Stickstoffbindung im Boden von der **Temperatur** kann nur angeführt werden, daß nach 45 Berthelot dieser Prozeß unter 10° und über 40—45° nicht von statten gehen soll. Die Sommertemperatur soll am günstigsten sein, wofür folgende Beobachtungen von Berthelot als Beleg angeführt werden:

Zunahme des Gesamtstickstoffs in 1 Kilo Boden	
29. Mai—10. Oktober	von 0,0709—0,0933 g
10. Oktober—30. April	„ 0,0933—0,0910 „
30. April—Oktober	„ 0,0910—0,1179 „

50

Ich habe dagegen ebenso wie Dehérain (2) starke Stickstoffbindung

(s. unten bei Besprechung des Einflusses einer Bodenlüftung) auch während der Wintermonate beobachtet, was mit BERTHELOT's Angabe nicht stimmt und für die praktische Verwertung der Stickstoffbindung im Boden wichtig ist.

Der Boden, in dem Stickstoffbindung stattfinden soll, muß nach BERTHELOT zwischen 2—3 und 15 Proz. Wasser enthalten. Zu viel Wasser wirkt schon deshalb schädlich, weil es die Luftzirkulation hemmt.

Daß **Luftzufuhr** die Stickstoffbindung durch *Azotobacter* in Reinkultur begünstigt, wurde oben schon berührt; ebenso verstärkt Lüftung diesen Prozeß im Boden. Es muß zunächst dahingestellt bleiben, ob dabei die reichliche Sauerstoffzufuhr die stickstoffbindenden Bakterien zu lebhafterer Vermehrung und Tätigkeit treibt, oder ob nur gasförmige Stoffwechselprodukte wie Kohlensäure durch den Luftstrom entfernt und so die stickstoffbindenden Bakterien wieder in ungehinderte Berührung mit stickstoffhaltiger Luft gesetzt werden. Die Verstärkung der Stickstoffbindung durch Lüftung des Bodens zeigt ein Versuch, den wir (KOCH (2)) ausführten, nachdem schon früher wiederholt andere, z. B. KRÜGER und SCHNEIDEWIND (3), festgestellt hatten, daß in gelüftetem Boden Pflanzen ganz auffallend besser wachsen. Wir haben den Versuchsplan dabei in der Weise erweitert, daß wir entsprechend unserer oben erwähnten Feststellung, daß stickstoffassimilierende Bakterien mindestens bis 80 cm Tiefe im Boden unseres Versuchsfeldes vorkommen, diesen Boden in vier verschiedenen Schichten, nämlich zuerst bis 20 cm Tiefe, d. h. bis zur Sohle der Pflugfurche, dann von 20—40, 40—60 und 60—80 cm Tiefe im Herbste der unbearbeiteten Haferstoppel entnahmen und bis zum Frühjahr in Haufen, die allmonatlich umgearbeitet wurden, im Freien liegen ließen und dann in Vegetationsgefäße füllten, andere solche Gefäße aber zum Vergleich mit im Frühjahr aus der unbearbeiteten Haferstoppel entnommenen Proben des gleichen Bodens füllten und Hafer, Senf, Buchweizen und Zuckerrüben in den Gefäßen kultivierten. Die hier folgenden Zahlen zeigen, wie der Stickstoffgehalt des Bodens, nach KJELDAHL bestimmt, infolge des Lüftens des Bodens während des Winters zunahm, also in der Jahreszeit, in der nach BERTHELOT die Stickstoffbindung nicht vor sich gehen soll:

Ernteerhöhung durch häufiges Umschaufeln des Bodens während des Winters.

Die Ernte in nicht gelüfteter Erde = 100 gesetzt.
Versuche in je 18 kg Erde in Blechgefäßen. Mittelwerte aus je 5 Versuchen.

Boden aus	Hafer	Senf	Buchweizen	Rüben
Schicht I bis 20 cm tief	237	457	220	231
„ II 20—40 „ „	197	122	168	208
„ III 40—60 „ „	353	107	193	228
„ IV 60—80 „ „	216	144	180	225

Ernte = Körner + Stroh lufttrocken; bei Rüben ohne Blätter.

Haferkörnerernte in einem Gefäß:

	Gelüfteter Boden	Nicht gelüfteter Boden
Schicht I bis 20 cm tief	40,9 g	17,04 g
„ II 20—40 „ „	10,0 „	5,44 „

Der Stickstoffgehalt des Bodens (nach KJELDAHL bestimmt) hatte dabei während des Winters durch das Umschaufeln in folgender Weise zugenommen:

Stickstoffgehalt und Stickstoffzunahme in gelüftetem und nicht gelüftetem Boden.

	Gelüftet Stickstoffgehalt %	Nicht gelüftet Stickstoffgehalt %	Stickstoffzunahme %
Schicht I bis 20 cm	0,132	0,113	0,019
„ II 20—40 „	0,109	0,074	0,035
„ III 40—60 „	0,076	0,059	0,017
„ IV 60—80 „	0,069	0,046	0,023

Hiernach darf es als sicher hingestellt werden, daß das durch die mitgeteilten Zahlen belegte, ganz auffallend gesteigerte Wachstum in durch Umschaufeln gelüfteter Erde wesentlich auf die Steigerung der durch die Luftzufuhr bewirkten Stickstoffbindung durch Bakterien zurückzuführen ist. Zweifellos wird der Boden hierbei aber auch sonst noch günstig verändert, besonders in bezug auf seine physikalische Beschaffenheit. So fand ich, daß die wasserhaltende Kraft des Bodens durch das Umschaufeln sich um 20 Proz. in unseren Versuchen erhöht hatte. Es ist klar und bekannt, daß dadurch die Pflanzenentwicklung ganz wesentlich verbessert wird. Und eine solche Erhöhung der wasserhaltenden Kraft tritt nicht nur bei Versuchen mit kleinen Erdmengen hervor, sondern auch dann, wenn auf dem Felde der Boden häufig und gründlich bearbeitet wird. Der Boden erscheint im Frühjahr auf solchen Feldern viel weniger naß als bei geringerer Bearbeitung.

§ 4. Bedeutung der Bindung freien Stickstoffs durch niedere Organismen für den Haushalt der wildwachsenden Pflanzen und für die Landwirtschaft.

Es ist nun noch die Frage zu erörtern, in welcher Weise und in welchem Umfange die Pflanzenwelt in der freien Natur, wie vor allem im landwirtschaftlichen Betriebe, sich von dem durch die Tätigkeit der soeben besprochenen Bodenbakterien gebundenen Stickstoff ernähren kann. Wir wollen diesen Punkt an der Hand der darüber vorliegenden landwirtschaftlichen Erfahrungen besprechen. Daß man aus schwerem Boden mehr Stickstoff in der Ernte herauswirtschaften kann, als man als Dünger zuführte oder aus den atmosphärischen Niederschlägen erhielt, ohne Raubbau auf Kosten des Stickstoffkapitals des Bodens zu treiben, haben schon viele Landwirte (vgl. Caron, Köster) in Uebereinstimmung mit den oft zitierten Kühn'schen Ausführungen herausgerechnet. Daß dies nur für den schweren und nicht für den leichten Boden gilt, der ein Stickstoffzehrer ist, hat nicht seinen Grund darin, daß im leichten Boden keine stickstoffbindenden Bakterien vorkommen, denn nach Beijerinck's und meinen Erfahrungen ist *Azotobacter* leicht selbst im Dünensand zu finden. Vielmehr wirken im leichten Boden wahrscheinlich stickstoffentbindende Organismen so stark, daß dadurch die Stickstoffbindung wieder aufgehoben wird. Jedenfalls müßte auf diese Erfahrung der Praxis über den Unterschied des leichten und schweren Bodens hinsichtlich Stickstoffbindung Rücksicht genommen werden, wenn man die Pflanzenernährung durch stickstoffbindende Bakterien untersuchen will. Richter's (1) Untersuchungen z. B., die mit sehr sandreichem Bodengemisch angestellt sind, müßten daher mit schwerem Boden wiederholt werden.

Daß ein Einfluß der Stickstoffbindung durch Bakterien auf die Pflanzenernährung nicht nur im landwirtschaftlichen Großbetriebe zu vermuten, sondern auch bei exakt geleiteten Feldversuchen sicher nachzuweisen ist, wurde auch in Lauchstädt (Schneidewind [1]) konstatiert, wo durch frei lebende stickstoffbindende Bakterien sogar mehr Stickstoff wie durch Gründüngung gewonnen wurde (vgl. Vibrans [1]).

Der Stickstoff, den der Boden an die darin wurzelnden Pflanzen abgibt, braucht also nicht ganz durch Düngung ersetzt zu werden, sondern wird zum Teil durch stickstoffbindende Bakterien aus der Luft ergänzt. Je mehr der Landwirt also versteht, die Tätigkeit der stickstoffbindenden Bakterien auszunutzen, desto mehr kann er an Stickstoffdüngung sparen. Es entsteht daher die Frage, welche Mittel wir haben, die Stickstoffbindung durch Bodenbakterien auf das höchste Maß zu steigern. Diese Frage ist von allgemeinem volkswirtschaftlichen Interesse, weil einerseits die Höhe der Erträge der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen ganz wesentlich von einer reichlichen Stickstoffernährung derselben abhängt und andrerseits Stickstoffdünger sehr teuer sind. Schon jetzt gibt Deutschland jährlich

70 Millionen Mark für Chilisalpeter
30 „ „ „ schwefels. Ammoniak

aus und die Nachfrage nach diesen Stickstoffdüngern steigt immer mehr, weil die Ueberzeugung von der Bedeutung derselben für die Pflanzenproduktion immer weitere Kreise ergreift. Möglichst hohe Ernten zu erzielen ist aber besonders für die Völker, welche jetzt Getreide vom Ausland beziehen, auch mit Rücksicht auf die stetig wachsende Bevölkerungsziffer nötig. Nun wird sich aber in wenigen Jahrzehnten die Lage des Stickstoffdüngermarktes völlig verschieben, weil dann die Chilisalpeterlager erschöpft sind und über die Abbaufähigkeit der neuerdings bekannt gewordenen Salpeterlager in Kalifornien und der Sahara noch nichts feststeht. Ein Ersatz des Chilisalpeters durch schwefelsaures Ammoniak erscheint ausgeschlossen, auch wenn die Produktion dieses Salzes nach Möglichkeit gesteigert würde, weil Deutschland allein jetzt jährlich 4 Millionen Doppelzentner Chilisalpeter und 1,5 Millionen Doppelzentner schwefelsaures Ammoniak braucht, ganz Europa jetzt aber jährlich nur 3,3 Millionen Doppelzentner schwefelsaures Ammoniak herstellt. Man hat freilich andrerseits jetzt sehr gegründete Hoffnung, daß man auf elektrischem Wege aus dem Stickstoff der Luft in Form von Salpetersäure, Calciumcyanamid oder aus letzterem gewonnenem Ammoniak Stickstoffdünger billig herstellen kann, aber wohlfeiler würden trotz alledem im landwirtschaftlichen Betriebe die stickstoffbindenden Bodenbakterien arbeiten und das ist für die Landwirtschaft, solange sie ihre Produkte billig verkaufen muß, doppelt wichtig.

Man hat nun daran gedacht, die Stickstoffbindung im Boden durch Impfung desselben mit stickstoffbindenden Bakterien zu steigern. *Clostridium* oder *Azotobacter* zu diesem Zwecke zu verwenden, erscheint aussichtslos, weil nach den oben angeführten Erfahrungen diese Formen oder nahe Verwandte sehr allgemein verbreitet sind. Dementsprechend haben Impfversuche von Gerlach und Vogel mit *Azotobacter* auch keinen Erfolg gehabt. Es kommt hinzu, daß eine Impfung das gewünschte Resultat nicht geben kann, wenn nicht die Bedingungen im Boden derart hergestellt werden können, daß die eingeimpften Bakterien auch sich vermehren und kräftig arbeiten können. Wenn nun aber stickstoffbindende Bakterien an und für sich schon weit verbreitet sind,

wird es auch ohne Impfung aussichtsvoll sein, ihre Tätigkeit durch Verbesserung ihrer Lebensbedingungen zu steigern, und in dieser Hinsicht haben wir praktisch jetzt am ehesten Aussicht, etwas erreichen zu können. Impfungen könnten dagegen wieder aufgenommen werden, wenn es gelänge, nicht allgemein vorkommende, sehr kräftige, stickstoffbindende Bakterienformen zu finden, die der Verbreitung würdig erschienen oder wenn man künstlich in ihrer stickstoffbindenden Kraft gestärkte Rassen oder Spielarten allgemein verbreiteter Bakterien züchten könnte. Die bisherigen Versuche, die sich in dieser Richtung bewegen, hatten aber keinen Erfolg. [1])

In welcher Richtung wir landwirtschaftlich die Lebensbedingungen der stickstoffbindenden Bakterien steigern können, liegt nach dem, was oben ausgeführt wurde, auf der Hand. Eine ausgiebige Bodendurchlüftung durch häufige Bearbeitung wird die besten Resultate geben und zugleich den Vorteil haben, daß der Boden physikalisch besonders in feuchten Klimaten ganz wesentlich verbessert, von Unkraut und sonstigen Schädlingen befreit wird usw. Wie stark auf diese Weise an Stickstoffdünger gespart werden kann, zeigten Köster (1; siehe auch Köster und Schulze (1)) und Caron (4) an praktischen Beispielen. Wie eine solche Bodenbearbeitung einzurichten ist, kann hier nicht erörtert werden. Der praktische Landwirt wird für jeden Fall sich selber sagen müssen, ob er die intensivste Bodendurchlüftung durch gut bearbeitete Schwarzbrache anwenden will oder in seine Fruchtfolge früh reifende Früchte einschalten kann, die eine mehrmalige ausgiebige Bearbeitung des Feldes im gleichen Herbste noch ermöglichen, oder ob er sich mit der Bodenbearbeitung durch frühzeitiges Schälen der Stoppel und nachheriges Tiefpflügen oder durch Einschaltung von Hackfrüchten oder Anwendung von Hackkultur bei Getreide begnügen muß. Jede solche Bodenbearbeitung wird aber nicht nur den Boden lüften. Sie wird auch gestatten, immer neue Schichten desselben dem Lichte auszusetzen. Wenn sich hierbei Algen entwickeln, werden diese den stickstoffbindenden Bakterien kohlenstoffhaltige Nahrung liefern und so deren Tätigkeit steigern [2]). Andrerseits etwa künstlich den Bodenbakterien als Zucker oder dgl. kohlenstoffhaltige Nährstoffe zuzuführen und so die Kulturpflanzen indirekt mit Luftstickstoff zu düngen, wird nicht so ohne weiteres praktisch mit dem gewünschten Erfolge ausführbar sein, weil Gegenwart größerer

---

[1]) Damit soll nicht gesagt sein, daß überhaupt Impfversuche aussichtslos erscheinen; das Gesagte bezieht sich nur auf stickstoffbindende Bakterien. Andrerseits ist es aber sehr wahrscheinlich, daß z. B. die günstige Wirkung von Kompost, Mist etc. zum Teil auf Einimpfung der in diesen Gemischen vorhandenen Organismen zurückzuführen ist Kossowitsch [2]). Ueber sonstige Impfversuche vgl. Hiltner (1, 3).

Hier ist auch das **Alinit** zu erwähnen, unter welchem Namen Reinkulturen des *Bacillus ellenbachensis α* von der Elberfelder Firma Bayer & Cie. in den Handel gebracht wurden, nachdem Caron angegeben hatte, daß diese von ihm aus dem Boden seines Gutes Ellenbach bei Kassel rein gezüchtete Bakterienform bei Topf- und Feldversuchen ertragsteigernd gewirkt hatte. Diese Beobachtung wurde von anderen Versuchsanstellern in Feld- und exakten Topfversuchen indessen meist nicht bestätigt. Aus der umfangreichen Literatur über Alinit sei hier nur auf Caron (1, 2), Krüger und Schneidewind (1), Stoklasa (2), Stoklasa und Sempolowski (1), Kossowitsch (3), Stutzer und Hartleb [1], Hartleb (1 u. 2), Schulze (1) vor allem und Jacobitz (3) verwiesen. Bindung freien Stickstoffs durch den Alinitbazillus wollen nur Stoklasa und Jacobitz beobachtet haben.

[2]) Bouilhac und Giustiniani zeigten neuerdings wieder, daß Algen die Stickstoffernährung von in stickstoffarmem Sand gezogenen Buchweizen ganz erheblich begünstigen.

Mengen von Kohlenstoffverbindungen im Boden einmal die Kulturpflanzen direkt schädigt und andrerseits die stickstoffentbindenden Bodenbakterien begünstigt.

Das beste Mittel, welches wir zurzeit anwenden können, um möglichst reichlich aus der Luft Stickstoff durch freilebende Bakterien in den Boden zu schaffen, ist also: Reichliche Zufuhr von Luft und Licht zum Boden. Und in dem Maße, wie wir dieses anwenden, werden diese Bakterien zur Stickstoffernährung der Kulturpflanzen im landwirtschaftlichen Betriebe beitragen.

Die wildwachsenden Pflanzen aber werden in ihrer Entwicklung auch um so mehr von der Energie abhängig sein, mit der die überall verbreiteten stickstoffbindenden Bakterien unter den Verhältnissen des betreffenden Standortes tätig sein können, je weniger Bodenstickstoffvorrat ihnen zur Verfügung steht. Schon den ersten auf Felsen sich ansiedelnden Pflanzen scheinen Bakterien Stickstoff zu liefern, denn Behrens (1) fand auf an der Luft liegenden Kalksteinen *Clostridium*. Bei Beurteilung der Verbreitung der wildwachsenden Pflanzen ist also die Arbeit der stickstoffbindenden Bakterien sehr wohl zu berücksichtigen.

Literatur

zum Kapitel Bindung von freiem Stickstoff durch frei lebende niedere Organismen.

*__Aeby__, H., (1) Landw. Versuchsstationen, 1896, Bd. 46, S. 409. *__Alpe__, V. e A. __Menozzi__, (1) Bull. di notizie agr. del Ministero d'Agricolture etc, 1892, Nr. 14. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 3, S. 213. *__Atwater__ u. __Woods__, (1) Am. Chem. Journal, 1890, Vol. 12, S. 526. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 1, S. 134. *__Behrens__, (1) Vortrag Nr. 6 in Neuere Fortschritte in Wirtschaftsbetrieb und Bodenkultur: 13 Vorträge, gehalten auf dem von der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft veranstalteten vierten Lehrgange für Wanderlehrer zu Eisenach vom 11.—17. April 1901. *__Beijerinck__, W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 561. *__Beijerinck__, W. und A. __van Delden__, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 3. *__Benecke__, W. und J. __Keutner__, (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1903, Bd. 21, S. 333. *__Berthelot__, M. (1) Chimie végétale et agricole. Tome I. Fixation de l'azote libre sur la terre et sur les végétaux. Paris 1899. Masson et Cie. Zusammenfassung der Resultate der nachfolgend einzeln aufgeführten Arbeiten, nach welcher oben stets zitiert wurde. — (2) Comptes rend. de l'Ac., 1885, Bd. 101, S. 775. — (3) Ebenda, 1886, Bd. 102, S. 951. — (4) Ebenda, 1887, Bd. 104, S. 205 u. 625. — (5) Ebenda, 1889, Bd. 108, S. 700. — (6) Ebenda, 1889, Bd. 109, S. 277. — (7) Ebenda, 1892, Bd. 115, S. 569. — (8) Ebenda, 1893, Bd. 116, S. 842. — (9) Ann. de chim. et de phys., 1893, 6. sér., Bd. 30, S. 419. — (10) Bull. de la Soc. chim. de Paris, 1894, Bd. 11, S 781 u. 784. *__Bouilhac__, R., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1896, Bd. 123, S. 828. — (2) Ibidem, Bd. 125, S. 880. — (3) Ann. agronom., 1900, Bd. 24, S. 561. *__Bouilhac__, R., et __Giustiniani__, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1903, Bd. 137, S. 1274. *__Boussingault__, (1) Agron., Chim. agric. et Physiol., 1860, Bd. I, S. 1. *__Bréal__, E., (1) Ann. agronom., 1893, Bd. 18, S. 369. *__Bredig__, (1) Anorganische Fermente, 1901, Leipzig, Engelmann. *__Burri__, R., (1) Schweiz. landw. Centralbl., 1901, S. 231. *__Caron__, A., (1) Landw. Versuchsstationen, 1895, Bd. 45, S. 401. — (2) Vortrag in der Wintervers. des Centralausschusses der kgl. Landwirtschaftsgesellschaft in Hannover, 26. Nov. 1896. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 8, S. 212. — (3) Jahrbuch der Deutsch. Landwirtschaftsgesellschaft, 1900, Bd. 15, S. 43. — (4) Amtsblatt der kgl. Landwirtschaftskammer Cassel, 1901. *__Chester__, D., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 10, S. 382. *__Coates__, E., und __Dodson__, R., (1) Journ. of the Am. chem. soc., 1896, Bd. 18, S. 425. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 7, S. 206. *__Day__, C., (1) Transactions of the Bot. Soc. of Edinburgh, 1893, S. 29. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 5, S. 261. *__Dehérain__, P., (1) Ann. agron., 1896, Bd. 21, S. 353. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 7, S. 214, Anm. (2) Comptes rend. de l'Ac., 1897, Bd. 125, S. 278. *__Dehérain__, P., et __Demoussy__, E., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1900, Bd. 130, S. 465. *__Frank__, B., (1) Landw. Jahrbücher, 1888, S. 421. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1889, Bd. 7, S. 5. — (2) Deutsche landw. Presse, 1891, Nr. 77. — (3) Landw. Jahrbücher, 1892, Bd. 21, S. 1. — (4) Bot. Ztg., 1893, Bd. 51, S. 139. — (5) Jahrbuch der Deutsch. Landwirtschaftsgesellschaft, 1898, Bd. 13, S. 25. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 9, S. 233. *__Frank__, B., und __Otto__, R., (1) Deutsche Landw. Presse, 1891, Bd. 18, Nr. 41. *__Freudenreich__, E. __von__, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt.,

1903, Bd. 10, S. 514. ***Gautier,** A., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1897, Bd. 124, S. 1205. ***Gautier,** A., et **Drouin,** R., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1888, Bd. 106, S. 1174 u. 1233. — (2) Ibidem, 1891, Bd. 113, S. 820. (3) Ibidem, 1892, Bd. 114, S. 19. — (4) Ibidem, 1891, Bd. 124, S. 1205. ***Gerlach und Vogel,** (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 669. — (2) Ibidem, 1902, Bd. 9, S. 817. — (3) Ibidem, 1903, Bd. 10, S. 636. ***Hartleb,** (1) Bot. Centralbl., 1897, Bd. 72, S. 229. — (2) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 706. ***Hellriegel,** (1) Untersuchung über die Stickstoffnahrung der Gramineen und der Leguminosen, 1888. ***Hellriegel,** H., **Wilfarth,** H., **Römer,** H., **Wimmer,** G., **Peters,** J. und **Franke,** M., (1) Zeitschr. d. Vereins f. Rübenzuckerindustrie, 1897, S. 141. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 8, S. 215. ***Henry,** (1) Journal d'agriculture pratique, 1897, II, S. 411. Ref. in Biedermann's Centralbl., 1898, S. 831. ***Hiltner,** L., (1) Jahrbuch der Deutsch. Landwirtschaftsgesellschaft, 1900, Bd. 15, S. 76. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 11, S. 257. — (2) Deutsche Landw. Presse, 1900, Bd. 27, S. 251. — (3) Ibidem, 1901, Bd. 28, S. 203. ***Jacobitz,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 833. Literaturübersicht. — (2) Münch. med. Wochenschr., 1902, S. 36; Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 728. Literaturübersicht. — (3) Z. f. Hygiene 1903, Bd. 45, S. 97. ***Immendorff,** (1) Landw. Jahrbücher, 1892, Bd. 21, S. 281. ***Koch,** A., (1) Verhandlungen d. Gesellschaft D. Naturforscher u. Aerzte, 1902. Allgem. Teil. — (2) Vortrag, gehalten in der ökon. Gesellschaft im Königreiche Sachsen am 4. Dez. 1903. ***Koch,** A., und **Kossowitsch,** P., (1) Bot. Ztg., 1893, Bd. 51, 2. Abt., S. 321. ***Koning,** J., (1) Natur 1899/1900. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 11, S. 260. ***Konwalewski,** (1) Russk. arch. patol. klin. med. i. bacteriol., 1898, Bd. 6. ***Kossowitsch,** P., (1) Bot. Ztg., 1894, Bd. 52, S. 97. — (2) Compte rendu du labor. agronom. du ministère de l'agriculture et des domaines à St. Pétersbourg, 1900, S. 237. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 11, S. 275. — (3) Ebenda, S. 233. ***Köster,** P., (1) Jahrbuch der Deutsch. Landwirtschaftsgesellschaft, 1900, Bd. 15, S. 55. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 11, S. 257. ***Köster,** P., und **Schulze,** C., (1) Vorträge, gehalten in der Wintervers. des Centralausschusses der kgl. Landwirtschaftsgesellschaft, 1899.. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 10, S. 260. ***Kowerski, von,** (1) Diss. Halle-Wittenberg, 1895. ***Krüger,** W., und **Schneidewind,** W., (1) Landw. Jahrbücher, 1899, Bd. 28, S. 217. — (2) Ibidem, 1900, Bd. 29, S. 771. — (3) Ibidem, 1901, Bd. 30, S. 633. ***Kühn,** J., (1) Fühling's landw. Ztg., 1901, S. 2. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 12, S. 366. ***Laurent,** (1) Bull. de l'Ac. royale de Belgique, 1886, 3. série, Bd. 11, S. 128. ***Liebscher,** (1) J. f. Landwirtschaft, 1893, Bd. 41, S. 319. ***Lotsy,** P., (1) Office of Exp. Stations, 1894, Bull. Nr. 18. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 5, S. 261. ***Müntz,** A., und **Marcano,** V., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1889, Bd. 108, S. 1062. ***Neumann,** P., (1) Landw. Versuchsstationen, 1901, Bd. 56, S. 203. ***Nobbe,** F., und **Hiltner,** L., (1) Landw. Versuchsstationen, 1894, Bd. 45, H. 1/2. ***Petermann,** A., (1) Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 3, S. 206. — (2) Recherches de chimie et de physiol. appliquées à l'agriculture. Paris 1895. — (3) Bull. de l'Ac. royale de Belgique, 1893, Bd. 25, S. 267. ***Pfeiffer,** Th., und **Franke,** E., (1) Landw. Versuchsstationen, 1897, Bd. 47, S. 455. ***Pichard,** P., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1892, Bd. 114, S. 81. — (2) Ann. agronom., 1892, Bd. 18, S. 108. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 3, S. 220. ***Puriewitsch,** K., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1895, Bd. 13, S. 339. ***Reinke,** (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1903, Bd. 21, S. 371. — (2) Ebenda, 1903, S. 484. ***Richter,** L., (1) Landw. Versuchsstationen, 1899, Bd. 51, S. 221. ***Saida,** K., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1901, Bd. 19, S. 107]. ***Schloesing,** Th. fils, et **Laurent,** E., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1891, Bd. 113, S. 776 u. 1059. — (2) Ibidem, 1892, Bd. 115, S. 659 u. 732; Ann. Pasteur, 1892, Bd. 6, S. 65 u. 824. ***Schneidewind,** (1) Landw. Jahrbücher, 1902, Bd. 21, S. 823. ***Schulze,** C., (1) Landw. Jahrbücher, 1901, Bd. 30, S. 319. ***Stoklasa,** J., (1) Landw. Jahrbücher, 1895, H. 6. — (2) Deutsche landw. Presse, 1899, Bd. 26, S. 145 und 263; Fühling's landw. Ztg., 1899, S. 66. — (3) Z. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich, 1900, Bd. 3, S. 440. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 11, S. 262. — (4) Deutsche landw. Presse, 1900, Bd. 27, S. 189. — ***Stoklasa und Sempolowski,** (1) Deutsche landw. Presse, 1899, Bd. 26, S. 13. ***Stoklasa,** J., und **Vitek,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 257. ***Stutzer,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 650. ***Stutzer und Hartleb,** (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 31. ***Tacke,** (1) Landw. Jahrbücher, 1889, Bd. 18, S. 453. **Vibrans,** (1) Mitteilungen der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft, 1904, S. 47. ***Welbel,** M., (1) J. f. exp. Landwirtschaft, 1903, S. 194. ***Winogradsky,** S., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1893, Bd. 116, S. 1385. — (2) Ebenda, 1894, Bd. 118, S. 353. — (3) Archives des sciences biol. publ. par l'Institut imp. de méd. exp. à St. Pétersbourg, 1895, Bd. 3, S. 297. Ref. in Koch's Jahresb., Bd. 6, S. 273. — (4) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 43.

(*Manuskript-Einlauf: 29. April 1904.*)

2. Kapitel.

Die Bindung von freiem Stickstoff durch das Zusammenwirken von Schizomyceten und von Eumyceten mit höheren Pflanzen.

5 Von Regierungsrat Dr. L. Hiltner,
Direktor d. K. Bayer. Agrikulturbotanischen Anstalt zu München.
(Mit Tafel II.)

§ 5. Stickstoffmehrer und Stickstoffzehrer.

Schon bei einigen landwirtschaftlichen Schriftstellern des Altertums
10 findet sich die Angabe, daß man den Boden nach Ernten von Luzerne und Wicken nicht zu düngen brauche. Selbst noch Thaer (1) erklärte die Düngung der kleeartigen Gewächse für Verschwendung, es sei denn, daß man ihnen vor Eintritt des Winters durch eine Stallmistgabe Frostschutz gewähren wolle. Hervorgegangen war diese Anschauung aus der
15 in der Praxis gemachten Beobachtung, daß nach derartigen Gewächsen die Nachfrucht, besonders Getreide, so gut gedeiht, als wäre sie gedüngt worden, und man gab ihr Ausdruck, indem man namentlich die Kleearten im Gegensatze zu den Getreidearten und anderen Kulturpflanzen als **bodenbereichernde** Gewächse, die letzteren dagegen als **boden-**
20 **zehrende** bezeichnete.

Als man später unter dem Einfluß der umwälzenden Lehren Liebig's die Beobachtungen mehr auf die einzelnen den Pflanzen notwendigen Nährstoffe ausdehnte, erkannte man bald, daß die bodenbereichernde Wirkung des Kleeanbaues, die sich in besserem Wachstum der Nach-
25 frucht zu erkennen gab, im wesentlichen eine Stickstoffwirkung ist. Namentlich die genaueren Feststellungen von Lawes und Gilbert (1), die im Jahre 1843 in Rothamsted in England die noch jetzt bestehende und demnach älteste Versuchswirtschaft einrichteten, gaben Veranlassung, die Kleearten statt allgemein als bodenbereichernde genauer als stick-
30 stoffbereichernde Gewächse zu bezeichnen. Man stellte sie und bald auch alle übrigen zur großen Familie der Schmetterlingsblütler gehörigen Kulturpflanzen, wie Erbsen, Bohnen, Wicken, Lupinen u. dgl., als **Stickstoffmehrer** den übrigen Kulturpflanzenarten (Halmfrüchte, wie z. B. Hafer, Weizen etc., Hackfrüchte, wie z. B. Rüben, Kartoffeln etc., Oel-
35 saaten u. s. f.) gegenüber, die bei fortdauerndem Anbau auf einem nicht mit stickstoffhaltigen Düngemitteln versehenem Boden den Stickstoffvorrat des Bodens mehr oder minder rasch erschöpfen und also **Stickstoffzehrer** sind.

Diese Scheidung der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen in zwei
40 große Gruppen besitzt auch heute noch Gültigkeit; doch muß schon an dieser Stelle hervorgehoben werden, daß man vielfach die Stickstoffzehrer wieder in zwei Gruppen spaltet, nämlich in die eigentlichen Stickstoffzehrer, zu denen vor allem die Getreidearten gehören, und die Stickstofferhalter, für die man, wie z. B. für den Raps, nachweisen konnte, daß
45 sie, obgleich sie selbst sehr stickstoffbedürftig sind, doch den Boden für die Nachfrucht in einem in bezug auf Stickstoffwirkung verhältnismäßig guten Zustande hinterlassen.

Die von den Landwirten schon seit so langer Zeit in der Fruchtfolge wohl berücksichtigte Tatsache, daß die schmetterlingsblütigen Pflanzen selbst auf stickstoffärmsten Böden je nach der Pflanzenart entweder gar keiner oder nur sehr geringer Stickstoffdüngung bedürfen, um sich kräftig zu entwickeln, und daß sie auch noch den Boden für die Nachfrucht in einem Zustande hinterlassen, als wäre er mit Stickstoff gedüngt worden, mußte um so mehr die Aufmerksamkeit der landwirtschaftlichen Forscher erregen, als ja gerade Kraut und Samen der Schmetterlingsblütler ungemein viel gebundenen Stickstoff enthalten; sie sind die an Eiweiß reichsten pflanzlichen Nahrungsmittel. Diese Tatsache wird am besten durch die nachfolgend angeführten Durchschnittszahlen der zahlreichen Analysenbefunde veranschaulicht. Es beträgt demnach der Gehalt an Stickstoff, auf Proz. der Trockensubstanz berechnet, bei den Samen von

Mais	1,8 Proz.	Erbse	4,3 Proz.
Buchweizen	1,9 „	Bohne	4,6 „
Hafer	1,9 „	Linse	4,7 „
Weizen	2,3 „	Sojabohne	6,1 „

Schon vor Liebig hatte man sich vielfach mit der Ermittlung der Stickstoffquellen der Pflanzen beschäftigt und dabei bereits die Frage experimentell zu lösen gesucht, ob der freie, elementare Stickstoff, aus dem ja vier Fünftel unserer Atmosphäre bestehen, von den Pflanzen verwertet werden könne. Die ersten wirklich in Betracht kommenden Versuche hierüber sind Boussingault (1) zu verdanken, der durch eine Reihe von Beobachtungen festgestellt hatte, daß den schmetterlingsblütigen Pflanzen, besonders den Kleearten, in der Luft enthaltener Stickstoff zur Verfügung stehen müsse, und deshalb zu entscheiden suchte, ob es sich dabei um den elementaren Stickstoff oder um in der Luft vorhandene Stickstoffverbindungen handle. Indem er die Frage, inwieweit der freie Stickstoff der Luft den Pflanzen zur Verfügung stehe, im allgemeinen, also nicht nur für Hülsenfrüchte zu entscheiden suchte, zog er die zu prüfenden Pflanzen in stickstofffreiem Sande oder in Bimssteinpulver mit Asche von Stalldünger oder in einem Boden mit genau bekanntem Stickstoffgehalt und schloß die Möglichkeit, daß in der Luft enthaltener gebundener Stickstoff aufgenommen werde, dadurch aus, daß er die Töpfe samt den Pflanzen unter Glasglocken setzte, in welche durch Zuleitungsröhren nur eine von solchen Verbindungen gereinigte Luft gelangen konnte. Das Ergebnis dieser hauptsächlich in den Jahren 1851—54 mit peinlichster Genauigkeit durchgeführten Versuche war ausnahmslos, daß von den geprüften verschiedenartigen Pflanzen, unter denen sich auch Schmetterlingsblütler befanden, der elementare Luftstickstoff nicht aufgenommen werden könne. Alle in stickstofffreiem Sande und in gereinigter Luft gezogenen Pflanzen erwiesen sich als unfähig, sich über ein gewisses Stadium hinaus zu entwickeln, und die nach meist mehrmonatlicher Versuchsdauer aufgestellten Stickstoffbilanzen ergaben meist nur Differenzen von wenigen Milligrammen. Von zahlreichen Forschern wurden im Laufe der nächsten Jahrzehnte derartige Versuche wiederholt, namentlich auch unter Benutzung der hauptsächlich von Knop ausgebildeten Wasserkulturmethode, und fast ausnahmslos fand dabei der Befund von Boussingault Bestätigung.

Die eigentümliche Fähigkeit der Schmetterlingsblütler, sich in einem Boden üppig entwickeln zu können, in dem andere Pflanzen sehr bald an ausgesprochenem Stickstoffhunger leiden, forderte aber gebieterisch

eine Erklärung. Manche Forscher glaubten dieselbe durch die Annahme gegeben zu haben, daß den meist tiefwurzelnden Schmetterlingsblütlern gebundener Stickstoff aus dem Untergrund zugeführt werde. Andere wieder zogen die in der Luft bzw. in den Niederschlägen stets vor-
5 handenen Ammoniakverbindungen der Kohlensäure, der salpetrigen Säure und der Salpetersäure in den Kreis ihrer Untersuchung. Ueber deren Ergebnisse ist schon im § 1 des ersten Kapitels dieses Bandes berichtet worden. Die auf Grund solcher Ermittlungen insbesondere durch HELLRIEGEL (1) vorgenommenen Berechnungen zeigten jedoch, daß diese Stick-
10 stoffzufuhr viel zu wenig ergiebig ist, als daß man ihr allein die Anreicherung des Ackers zuschreiben könnte. Ueberdies würde sie, da sie allen Feldern einer bestimmten Gegend in annähernd gleichem Maße zugute kommt, keine Erklärung für die Tatsache geliefert haben, daß unter allen diesen Feldern (ohne Düngung mit Stickstoff) gerade nur
15 die mit Schmetterlingsblütlern bebauten eine so beträchtliche Mehrernte an stickstoffreicher Substanz liefern.

Auch die Annahme, daß die schmetterlingsblütigen Pflanzen sich ihren Stickstoffbedarf aus dem Untergrunde holten, erwies sich als durchaus unzureichend, eine Erklärung für deren merkwürdiges Ver-
20 halten zu geben. Denn nicht alle Schmetterlingsblütler gehören zu den Tiefwurzlern und auf gut bestandenen Lupinenfeldern, die nichts als metertiefen Flugsand zu bieten hatten, fand sich auch in größter Tiefe kein nennenswerter Stickstoffvorrat. So lag denn nach jahrzehntelangen Bemühungen der eigenartige Fall vor, daß die praktische Erfahrung der
25 Landwirte und das Ergebnis zahlreicher wissenschaftlicher Forschungen in einem scheinbar unlösbaren Widerspruch zueinander standen. Derselbe verschärfte sich noch bedeutend, als der Rittergutsbesitzer SCHULTZ-LUPITZ (1) in einer im Jahre 1883 erschienenen, aufsehenerregenden Schrift in unwiderleglicher Weise den Nachweis führte, daß sich die
30 Schmetterlingsblütler als bodenbereichernd erweisen und zwar nicht, weil sie im allgemeinen Nährstoffe, sondern weil sie vorwiegend Stickstoff sammeln; diese Pflanzen seien daher **Stickstoffsammler** zu nennen. Auf seinen Lupinenwiesen hatte der genannte Landwirt 15 Jahre hintereinander unter Düngung mit Kainit Lupinen gebaut, und nach diesem
35 Zeitraum, während dessen nie mit Stickstoff gedüngt worden war, erwies sich der Boden an Stickstoff nicht ärmer sondern reicher.

Das Jahr 1886 brachte endlich des Rätsels Lösung durch die klassischen Arbeiten von HELLRIEGEL und seinem langjährigen Mitarbeiter WILFARTH, durch welche der bestimmte Nachweis geführt wurde, daß die schmetter-
40 lingsblütigen Pflanzen durch den Besitz der schon lang bekannten knöllchenartigen Anschwellungen an ihren Wurzeln tatsächlich befähigt sind, sich den freien Stickstoff der Luft zu ihrer Ernährung nutzbar zu machen.

§ 6. Die Leguminosenknöllchen und die Entdeckung ihrer
45 Bedeutung.

Nicht nur sämtliche Arten der Schmetterlingsblütler, die *Papilionaceae*, sondern auch die Angehörigen der übrigen zu den Leguminosen gehörenden Pflanzenfamilien, die *Caesalpiniaceae* und *Mimosaceae*, können an ihren Wurzeln jene eigentümlichen Anschwellungen bilden, die man als **Wurzel-**
50 **knöllchen** zu bezeichnen pflegt (vergl. *Fig. 2—4*). Es ist bisher keine zur

Ordnung der Leguminosen gehörende Pflanzenart bekannt geworden, der die Fähigkeit zur Bildung von Wurzelknöllchen vollständig abgeht. Selbst bei *Arachis hypogaea*, für die ERIKSSON (1) das Vorhandensein von Knöllchen an den Wurzeln bestritt, obgleich eine Angabe über deren Vorkommen bei dieser Pflanzenart sich schon bei POITEAU im Jahre 1852 findet, wurde durch H. LECOMTE (1) im Jahre 1894 das Vorhanden-



Fig. 2.
Wurzelknöllchen an *Lupinus luteus*. — Nach A. MAYER.

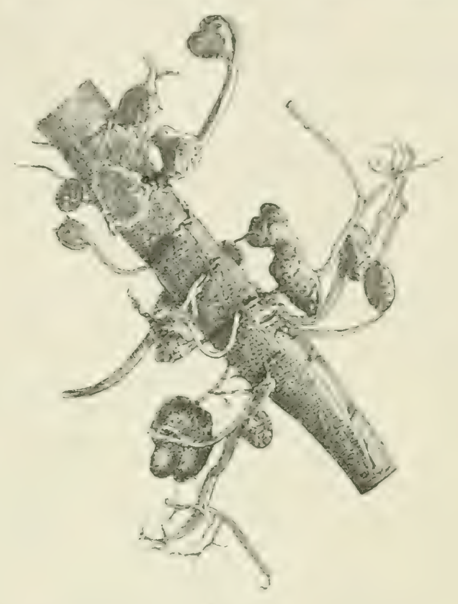


Fig. 3.
Wurzelknöllchen an *Robinia Pseudacacia*.
Nach F. NOBBE.

sein von Knöllchen sicher nachgewiesen. Und auch bei *Gleditschia*, an deren Wurzeln weder F. NOBBE (1) und seine Mitarbeiter, noch D. MORK (1) jemals Knöllchen finden konnten, fehlen solche durchaus nicht immer.

Die erste Beschreibung der Leguminosenknöllchen hatte in seinem im Jahre 1687 erschienenen Buche schon MALPIGHI (1) gegeben, der die Wurzelanschwellungen als Gallen, also als krankhafte Auswüchse, auffaßte. Derselben Meinung war im Jahre 1825 auch noch P. DE CANDOLLE (1). Der erste, der (im Jahre 1853) diese Knöllchen als normale Gebilde erklärte, war TREVIRANUS (1). Dreizehn Jahre später studierte sie WORONIN (1) und machte die in der Folgezeit wichtig gewordene Beobachtung, daß diese Gebilde allseits geschlossene Zellen enthalten, die von lebenden Bakterien erfüllt sind. In den siebziger Jahren erklärten dann ERIKSSON (1) und CORNU (1) diese Anhängsel als umgewandelte (metamorphosierte) Seitenwurzeln von ganz eigenartigem Bau.

Die **Gestalt, Größe und Stellung der Knöllchen** ist bei den verschiedenen Leguminosenarten sehr verschieden. A. TSCHIRCH (1), der hierüber besonders eingehend berichtet, unterscheidet zweierlei Typen, den *Lupinus* und den *Robinia*-Typus, die sich nach ihm auch ent-

wicklungsgeschichtlich erheblich voneinander unterscheiden sollen. Der **erste Typus,** dem *Lupinus* allein zu folgen scheint, ist charakterisiert durch Anschwellungen des zentralen Wurzelbündels selbst, die in ihren Anfangsstadien äußerlich wie jede andere Hypertrophie der Wurzel aus-
5 sehen und die sich in ihrer weiteren Entwicklung beiderseits mantelartig um den Wurzelkörper herumlegen. Sie ähneln sodann unregelmäßigen, lokalen Verdickungen der Wurzeln. Andrerseits aber kann auch bei Lupinen durch unregelmäßiges Wachstum ein wirklich knolliger
10 Körper entstehen, durch welchen hindurch alsdann die Wurzel, an der das Knöllchen sich gebildet hat, selbst sich zieht. Dem **zweiten Typus,** also dem von *Robinia*, gehören nach Tschirch, wie es scheint, alle übrigen Leguminosenknöll-
15 chen an. Hier sind es in allen Fällen seitlich den Wurzeln ansitzende Knöllchen, die infolge dieser Lage sich weit ungehinderter entwickeln können. So findet sich denn in dieser Gruppe ein außerordentlicher Formenreichtum: „Die ein-
20 fachste Form, die Kugel, wird von *Phaseolus*, *Lotus*, *Anthyllis* und *Ornithopus* repräsentiert, ovale Knöllchen finden sich bei *Hedysarum*, *Trifolium*, länglich ovale bei *Sophora*, kegelförmige bei *Caragana*, fingerförmige bei *Vicia*
25 *cracca*. Bei *Robinia* ist das Anfangsstadium gleichfalls oval; später wächst die Spitze zugleich auch in die Breite, und so sitzt einem dünnen Stiel ein breiter, flachkegelförmiger Knopf auf, der sich oftmals in mehrere Lappen teilt. Noch
30 merkwürdiger sind die Knöllchen bei *Medicago sativa*. Hier verdienen sie gar nicht den Namen Knöllchen; es sind vielmehr flachhandförmig zerteilte Gebilde von korallenartiger Gestalt. Handförmige Teilungen sind auch sonst nicht
35 selten (*Trifolium*, *Sarothamnus*).“ Bei dieser Einteilung und Beschreibung der Knöllchen der verschiedenen Leguminosengattungen geht Tschirch, welcher diese Gebilde noch als normale Organe deutete, von der Auffassung aus, daß dieselben bei ein und derselben Pflanzenart
40 durchaus einheitlicher Natur seien. Im § 9 werden wir aber darlegen können, daß die Größe, Zahl und Stellung und auch die Form der Knöllchen auch bei ein und derselben Pflanzenart äußerst verschieden sein kann, je nach den Eigenschaften des Bodens, in welchem die Pflanzen wurzeln, und je nach der Virulenz der Bakterien, welche die Entstehung
45 der Knöllchen veranlassen.



Fig. 4. Wurzelknöllchen an *Vicia Faba*. — Nach Strasburger.

Was die **Entstehung der Knöllchen** anbelangt, so konnte A. B. Frank (1) bereits im Jahre 1879 nachweisen, daß die Wurzelanschwellungen ausbleiben, wenn die Pflänzchen in sterilisiertem Boden gezüchtet werden; gleichzeitig fand er im Innern der Knöllchen einen pilzartigen, sporen-
50 abschnürenden Organismus, den er für den Erreger dieser Gebilde ansprach, während, wie schon erwähnt, Woronin bereits im Jahre 1866 die Anwesenheit von bakterienartigen Organismen im Innern der Knöllchen nachgewiesen hatte. Jedenfalls erschien es durch diese Beobachtungen

äußerst wahrscheinlich, daß die Knöllchenbildung durch Bodenorganismen veranlaßt werde. Und nachdem durch H. M. Ward (1) nachgewiesen worden war, daß die Knöllchen bei Wasserkulturen von *Vicia Faba* in sterilisierter Nährlösung ausbleiben, hingegen dann sehr zahlreich auftreten, wenn zerschnittene Knöllchen, die in gewöhnlicher Erde heran- 5 gewachsen waren, zwischen die Wurzelhaare gebracht werden, durfte man dies als sichere Tatsache annehmen. Kny (1) erklärte den Knöllchenerreger für ein Plasmodium, welcher Anschauung sich auch Sorauer in seinem Handbuch der Pflanzenkrankheiten anschloß.

Gingen somit die Ansichten über die Natur des mutmaßlichen Knöllchen- 10 erregers erheblich auseinander, so schien doch jeder Zweifel darüber ausgeschlossen, daß die Knöllchenbildung auf Organismenwirkung zurückzuführen sei. Kurz vor dem Bekanntwerden der Hellriegel'schen Beobachtungen (1886) gewann jedoch trotzdem durch Untersuchungen von Brunchorst (1) und Tschirch (1) eine andere Auffassung Platz. 15 Diese Forscher, denen es trotz aller Bemühungen nicht gelingen wollte, aus den Knöllchen Organismen auf künstlichen Nährböden zu züchten, kamen nämlich aus diesen und anderen Gründen zu dem Schlusse, die bakterienartigen Körperchen im Innern der Knöllchen, die **Bakteroiden,** wie sie Brunchorst nannte, seien nicht fremden Ursprungs sondern ge- 20 formte Inhaltsbestandteile der Leguminosenpflanzen, die etwa den Chlorophyll- oder Aleuronkörnern an die Seite gestellt werden müßten. Merkwürdigerweise schloß sich A. B. Frank (2) dieser Auffassung seines Schülers Brunchorst an und bekämpfte auf Grund derselben Hellriegel lange Zeit mit solcher Entschiedenheit und zunächst mit solchem Er- 25 folge, daß sich die Mehrzahl der Botaniker ihm anschloß und F. Benecke (1) bezeichnender Weise in einem Referate über einige auf Leguminosenknöllchen sich beziehende Arbeiten im Centralblatt für Bakteriologie erklärte, nach seinem Referat würden wohl die Erörterungen über diese Gebilde endgültig aus dieser Zeitschrift verschwinden. Als F. Benecke 30 dies niederschrieb, waren die Hellriegel'schen Beobachtungen schon längst bekannt; richteten sich doch alle Ausführungen Frank's gegen Hellriegel's „Hypothese“. Nahezu 2 Jahre waren verflossen, seit „jener denkwürdigen Sitzung der Sektion für landwirtschaftliches Versuchswesen auf der Naturforscherversammlung in Berlin, da Hellriegel die 35 von ihm gewonnenen Resultate in seiner einfachen und anspruchslosen Art demonstrierte und seine Versuchspflanzen herumgab“, und A. Mayer, dessen Lehrbuch der Agrikulturchemie wir diesen Satz entnehmen, und der angibt, daß er selbst dieser Sitzung beigewohnt habe, „erinnert sich nicht eines größeren Eindrucks auf eine zahlreiche wissenschaftliche 40 Versammlung, einer gleichmütigeren Zustimmung aller Anwesenden. Jeder, der zugegen war, hatte das Gefühl, daß eine brennende Frage ebenso unerwartet wie endgültig gelöst worden sei, kurz, dessen, was man eine Epoche zu nennen pflegt.“

Und in der Tat, man kann nichts über die Leguminosenknöllchen 45 schreiben, ohne dankbarst jenes leider so früh dahin geschiedenen, von A. Mayer so treffend charakterisierten Mannes und seines Mitarbeiters Wilfarth zu gedenken. Hatten bis zum Erscheinen der Arbeiten dieser beiden Forscher den Knöllchen fast nur Botaniker und Pflanzenpathologen ein Interesse abzugewinnen vermocht, fehlte es sogar nicht an 50 Vorschlägen, das Auftreten der Knöllchen an den Lupinenwurzeln durch Kalkung des Bodens zu bekämpfen, so trat im Jahre 1886 mit einem Schlage die physiologische Bedeutung dieser Gebilde in den Vordergrund,

und die uralte, viel umstrittene Frage nach den Ursachen der abweichenden Ernährungsweise der Leguminosenpflanzen erschien geklärt. Zwar hatte schon Lachmann (1) im Jahre 1858 die Wurzelknöllchen der Leguminosen als Eiweißspeicher gedeutet und Schindler (1) zuerst im Jahre 1885 die Vermutung ausgesprochen, daß die Knöllchen zu der stickstoffsammelnden Fähigkeit der Leguminosen in Beziehung stünden; aber erst Hellriegel und Wilfarth führten die Vermutung zur Gewißheit.

Es ist von hohem Interesse, festzustellen, auf welche Weise die beiden Forscher die Beziehung der Knöllchen zur Stickstoffassimilation der Papilionaceen entdeckten. Ihr Bestreben war nicht etwa von vornherein darauf gerichtet, eine solche Beziehung aufzufinden; sie beschäftigten sich vielmehr zunächst nur mit der zu jener Zeit an den meisten Versuchsstationen üblichen Bestimmung des Nähreffektes bestimmter Nährstoffe, indem sie unter Verwendung der gerade von Hellriegel besonders ausgebildeten Sandkulturmethode mit verschiedenen Kulturpflanzen Versuchsreihen ansetzten, bei denen der zu prüfende Nährstoff teils ganz fehlte, teils in steigenden, genau bestimmten Mengen dem Nährboden zugesetzt war. Dabei konnten sie feststellen, daß in völlig stickstofffreiem, aber mit den übrigen Nährstoffen genügend versehenem Quarzsande die Assimilation und Produktion der von ihnen geprüften Cerealien (Hafer und Gerste) immer nahezu gleich Null war. Durch Zugabe von Nitraten zum Boden ließ sich aber allezeit ein normales Wachstum dieser Pflanzenarten hervorrufen, und zwar stand dann deren Entwicklung immer in annähernd direktem Verhältnis zu der Menge des gegebenen Nitrates. In den Ernten der Gerste und des Hafers, gleichgültig ob sie in einem stickstofflosen oder in einem stickstoffarmen oder aber in einem stickstoffreichen Boden gewachsen waren, wurde niemals mehr oder auch nur ebensoviel Stickstoff wieder gefunden, als in dem Boden bei Beginn des Versuchs in Form assimilierbarer Stickstoffverbindungen vorhanden gewesen war.

Ganz ebenso verhielten sich die geprüften schmetterlingsblütigen Pflanzen (Erbsen, Serradella und Lupinen), sobald der Nährboden sterilisiert worden war; auch sie erwiesen sich in ihrer Ernährung in diesem Falle also durchaus abhängig vom Bodenstickstoff, und in den Ernteprodukten war ein bemerkenswertes Plus von Stickstoff, welches aus anderen Quellen als dem Boden hätte stammen können, nicht aufzufinden. Hingegen zeigten sich bei den schmetterlingsblütigen Pflanzen zunächst unerklärliche Ungleichheiten und Widersprüche, wenn der Sand, in dem man dieselben zog, nicht sterilisiert worden war. Manchmal stand auch hier das Wachstum und die Produktion an Pflanzensubstanz in genauer Beziehung zur Menge des gegebenen Bodenstickstoffs; in anderen Fällen aber entwickelten sich diese Pflanzen selbst in ganz stickstofffreiem Sande durchaus normal, zuweilen sogar auffallend üppig. Sicher zeigte sich in allen Fällen diese Unabhängigkeit vom Bodenstickstoff, wenn dem stickstofffreien Bodenmaterial eine nur sehr geringe Menge (1 bis 2 pro Mille) des Aufgusses eines Kulturbodens zugegeben wurde. Da sich diese auffallende Wirkung eines derartigen Bodenaufgusses unmöglich durch einen etwaigen Gehalt desselben an Stickstoff oder anderen Pflanzennährstoffen erklären ließ, und da seine Wirkung stets ausblieb, sobald man ihn vor dem Zusetzen abkochte, so konnte nur eine Organismenwirkung in Frage kommen. Und in der Tat ließ sich feststellen, daß nur in jenen Fällen eine Beziehung des Wachstums zum Stickstoffgehalt

des Bodens zu vermissen war, wenn an den Wurzeln der Pflanzen Knöllchen vorhanden waren. Während in sterilisiertem und während der Vegetationszeit steril erhaltenem oder mit einem unwirksamen Aufguß versehenem Boden das Auftreten von Wurzelknöllchen stets unterblieb, war in nicht sterilisiertem, mit einem wirksamen Bodenaufguß 5 versetzten Bodenmaterial die Bildung normal entwickelter Knöllchen stets nachweisbar, und mit dieser war eine erhebliche Assimilation von Stickstoff, dessen Quellen im Boden nicht zu suchen waren, immer verbunden. Ein und dieselbe Papilionaceenart wurde durch Bodenaufgüsse verschiedener Herkunft sehr ungleich beeinflußt, und ein und derselbe 10 Bodenaufguß wirkte auf verschiedene Papilionaceenarten durchaus verschieden. So beförderte der Aufguß von einem vorzüglichen Zuckerrübenboden, in welchem zwar Erbsen und verschiedene Kleearten seit langer Zeit in die regelmäßige Fruchtfolge eingeschoben worden, Serradella und Lupinen aber noch niemals angebaut waren, das Wachstum 15 und den Stickstoffgewinn der Erbsen sicher und in bedeutendem Grade, hatte aber in der kleinen Menge, in der er verwendet wurde, für die Entwicklung der Serradella und der Lupinen nicht den geringsten Effekt.

Aus diesen Ergebnissen leitete HELLRIEGEL folgende Schlüsse ab: 20

1. Die Leguminosen verhalten sich bezüglich der Aufnahme ihrer Stickstoffnahrung von den Gramineen prinzipiell verschieden.

2. Die Gramineen sind mit ihrem Stickstoffbedarf einzig und allein auf die im Boden vorhandenen Stickstoffverbindungen angewiesen, und ihre Entwicklung steht immer zu dem disponiblen 25 Stickstoffvorrate des Bodens in direktem Verhältnisse.

3. Den Leguminosen steht außer dem Bodenstickstoff noch eine zweite Quelle zur Verfügung, aus welcher sie ihren Stickstoffbedarf in ausgiebiger Weise zu decken resp. soweit ihnen die erste Quelle nicht genügt, zu ergänzen vermögen. 30

4. Diese zweite Quelle bietet der freie elementare Stickstoff der Atmosphäre.

5. Die Leguminosen haben nicht an sich die Fähigkeit, den freien Stickstoff der Luft zu assimilieren, sondern es ist hierzu die Beteiligung von lebenstätigen Mikroorganismen im Boden unbedingt 35 erforderlich.

6. Um den Leguminosen den freien Stickstoff für Ernährungszwecke dienstbar zu machen, genügt nicht die bloße Gegenwart beliebiger niedriger Organismen im Boden, sondern es ist nötig, daß gewisse Arten der letzteren mit den ersteren in ein symbio- 40 tisches Verhältnis treten.

7. Die Wurzelknöllchen der Leguminosen sind nicht als bloße Reservespeicher für Eiweißstoffe zu betrachten, sondern stehen mit der Assimilation des freien Stickstoffs in einem ursächlichen Zusammenhange. 45

Mit diesen Sätzen war das Fundament geschaffen, auf welchem sich alle in der Folgezeit über die Knöllchenfrage (bzw. die Stickstoffernährung) der Leguminosen von zahlreichen Forschern ausgeführten Arbeiten aufbauten. Manche Forscher, insbesondere FRANK und seine Schüler, suchten zwar noch jahrelang dieses Fundament selbst 50 zu stürzen, und HELLRIEGEL mußte es noch erdulden, daß man mit scharfen Angriffen gegen dasselbe vorging; aber es war ihm auch ver-

gönnt, noch zu erleben, daß selbst seine Widersacher, die auf anderer Grundlage ein womöglich noch stolzeres Gebäude errichten wollten, schließlich ihre vergeblichen Bemühungen einstellten, nachdem es ihnen allerdings einige Zeit gelungen war, in weiten Kreisen die Anschauung 5 hervorzurufen, als hätten sie eigentlich die hervorragendste Arbeit geleistet. Man schmälert Hellriegel's Verdienste nicht, wenn man hervorhebt, daß er nur die vorhandenen Bausteine zusammenzufügen hatte. Der amerikanische Agrikulturchemiker Atwater (1), E. v. Wolff (1), vor allem auch P. Wagner (1) hatten schon vor Hellriegel durch 10 Vegetationsversuche nachgewiesen, daß die Schmetterlingsblütler nicht auf den Bodenstickstoff angewiesen sind. So rührt von E. v. Wolff folgendes Ergebnis her, das in aus Zink hergestellten Vegetationskästen gewonnen war, in die je 24 kg kalkhaltigen, stickstofflosen, gewaschenen Flußsandes eingefüllt und nach Zugabe der erforderlichen mineralischen 15 Nährstoffe verschiedene Nutzpflanzen eingesät worden waren:

pro Gefäß	Hafer		Buchweizen		Raps		Erbse		Wicke	
	ohne N	mit N	ohne N	mit N	ohne N	mit N	ohne N	mit N	ohne N	mit N
Ernte-Trockensubstanz *g*	24	91	12	44	13	50	352	330	250	241
darin Stickstoff *g*	0,15	0,44	0,14	0,43	0,13	0,50	**6,74**	**6,45**	**6,01**	**5,95**

Die Unabhängigkeit der Erbsen und Wicken vom Bodenstickstoff tritt hier überaus deutlich hervor. Sehr schön veranschaulicht dies auch das von P. Wagner herrührende Bild auf Seite 33. Andererseits hatte, wie schon erwähnt, Schindler bereits darauf hingewiesen, daß die 20 Knöllchen nicht bloße Eiweißspeicher sein könnten, sondern wahrscheinlich zu der eigentümlichen Ernährungsweise der Leguminosen in Beziehung stünden. Hellriegel's und Wilfarth's ausschließliches Verdienst ist es aber, die Vermutungen zur unumstößlichen Gewißheit gemacht zu haben.

25 § 7. Die Bakterien der Leguminosenknöllchen.

Schon im vorhergehenden Paragraphen haben wir dargetan, daß mit der Entdeckung der Knöllchenbakterien durch Woronin im Jahre 1866 ihre allgemeine Anerkennung in der Wissenschaft durchaus noch nicht gesichert war, da manche Forscher die von ihnen in den Knöllchen wahrgenommenen 30 Organismen als Pilze, andere als Plasmodien ansprachen, ja daß schließlich J. Brunchorst (1) die angeblichen Organismen als geformte Eiweißkörper erklärte, welche von den Zellen des Knöllchens in deren Innern angesammelt werden und darum, als ihrer Gestalt nach den Bakterien ähnlich, als Bakteroiden zu bezeichnen wären. Seitdem führt auch der innere Teil 35 der Knöllchen, in welchem diese Gebilde reichlich sich finden, den Namen **Bakteroidengewebe.** Daß merkwürdigerweise auch Frank dieser Auffassung sich anschloß, trotzdem er sich dadurch in Widerspruch zu seinen eigenen Befunden aus dem Jahre 1879 setzte, haben wir schon erwähnt. Ebenso stellte sich A. Tschirch (1) auf die Seite von 40 Brunchorst.

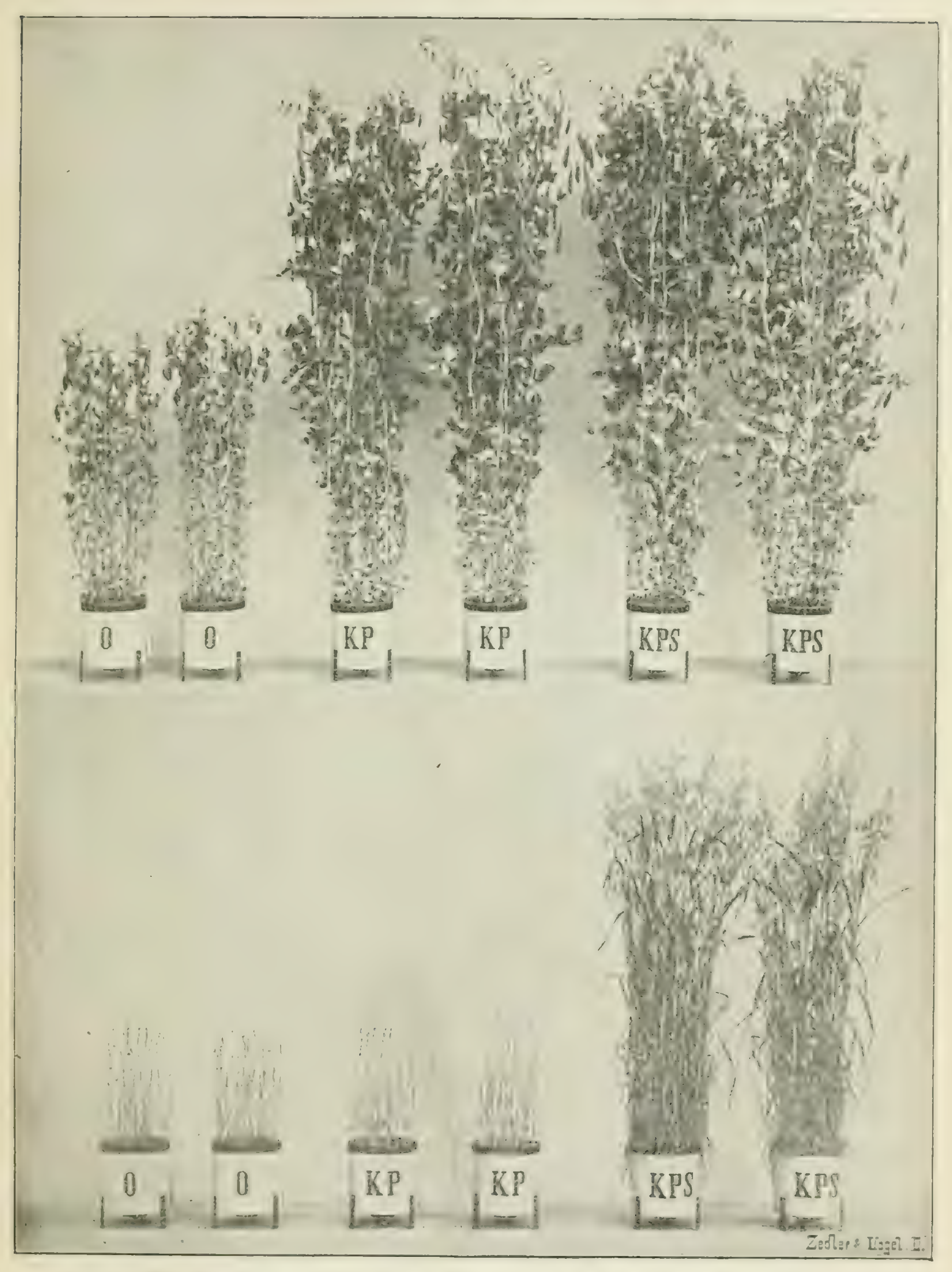


Fig. 5. Düngungsversuch mit Erbse (oben) und mit Hafer (unten).
0 ungedüngt. **KP** mit Aschenbestandteilen gedüngt. **KPS** mit Aschenbestandteilen und Stickstoff gedüngt. — Nach P. Wagner.

Der Umschwung vollzog sich ein Jahr später, also im Jahre 1888, als Beijerinck (1) die Pilznatur dieser angeblichen Scheinbakterien dadurch außer Zweifel stellte, daß er diese aus den Knöllchen abschied und außerhalb derselben auf **künstlichen Nährböden** weiter züchtete. Es gelang ihm dies, als er an Stelle der gewöhnlichen Fleischpeptongelatine, auf welcher die Knöllchenbakterien gar nicht oder nur sehr kümmerlich gedeihen, einen Absud von Papilionaceenblättern verwendete, dem 7 Proz. Gelatine, ein Viertel Prozent Asparagin und ein halbes Prozent Rohrzucker zugesetzt wurden. Die erwünschte Acidität soll in 100 ccm ungefähr 0,6 ccm Normalsäure betragen. Auf Platten, welche aus diesem Nährboden hergestellt sind, bringt man eine geringe Menge einer Aufschwemmung, die man sich derart bereitet, daß man einige Kubikzentimeter sterilisierten Wassers mit ein wenig von dem Inhalt des Bakteroidengewebes eines frischen jungen Knöllchens beimpft, das man zuerst mit Wasser gewaschen, dann eine kurze Zeit in Alkohol gelegt, von diesem hierauf mit Aether befreit und endlich mit sterilisierter Messerklinge entzweigeschnitten hat. Die geringe Menge der Impfflüssigkeit wird von der Gelatine aufgesaugt, so daß die ausgesäten Bakterien an der Oberfläche verbleiben, wo ihr Wachstum am besten vor sich geht. Sie entwickeln sich hier zu kleinen, schleimigen, die Gelatine nicht verflüssigenden Kolonien. Prażmowski (1) hat später die Kolonien, die sich auf der Oberfläche der Nährgelatine ausbilden, treffend mit Stearintröpfchen verglichen.

Nach Beijerinck bemerkt man in einem von solchen Kolonien angefertigten Präparate **zweierlei Zellgestalten,** die er als Stäbchen und Schwärmer unterscheidet. Jene zeigen bei einer Breite von 1 μ eine Länge von 4—5 μ und streben begierig dem Rande des Deckglases zu, wo frischer Sauerstoff eintritt. Gegen sie als wahre Zwerge zu bezeichnen sind die Schwärmer, denn sie erreichen nur eine Länge von 0,9 μ und eine Breite von 0,18 μ. Tatsächlich dürften die „Stäbchen" Beijerinck's bereits die Anfänge von Bakteroidenbildungen darstellen, auf die im folgenden Paragraphen näher einzugehen sein wird; denn spätere Beobachter schreiben den unveränderten Knöllchenbakterien eine Gestalt und Größe zu, die nur den von Beijerinck für die Schwärmer gemachten Angaben entsprechen.

Die Knöllchenbakterien weisen kräftige Eigenbewegung auf; sie sind streng aerob. Enzyme, welche Leim, Stärke und Cellulose zu lösen oder Saccharose zu invertieren vermögen, werden nach Beijerinck von den Knöllchenbakterien nicht hervorgebracht. Sporenbildung hat man nicht nachweisen können, weshalb Prażmowski den von Beijerinck gegebenen Namen *Bacillus radicicola* in *Bacterium radicicola* umwandelte. Mit diesem Befunde in Uebereinstimmung steht die Feststellung, daß schon eine Temperatur von 60—70° genügt, um diese Bakterien zu töten.

A. B. Frank (4), der später angeblich Reinkulturen von Knöllchenbakterien gewann, gibt an, dieselben bildeten gelbliche Kolonien auf Gelatine und stellten Kokken dar. Doch ist es schon hiernach sicher, daß er unreine Kulturen vor sich hatte. Ueberflüssigerweise gab er den Bakterien einen neuen Namen: *Rhizobium leguminosarum*, der sich in der Folgezeit ziemlich fest einbürgerte, neuerdings aber wieder aufgegeben wurde.

Innerhalb der Knöllchen verwandeln sich die Bakterien in eigentümliche, meist um das Vielfache größere Gebilde, für die man den von Brunchorst gegebenen Namen **Bakteroiden** bis jetzt beibehalten hat;

sie sind in ihrer Gestalt und Größe, je nach der Leguminosenart, der sie entstammen, oft auffallend verschieden. Schon Beijerinck beobachtete, daß sie sich auch auf künstlichem Nährboden bilden können. Da er wahrnahm, daß sich eine alte Kultur von Bakterien aus Knöllchen von *Phaseolus vulgaris* vollständig in eine kreideweiße Masse verwandelt hatte, die gänzlich aus Bakteroiden bestand, welche alle bei Papilionaceen überhaupt vorkommenden Gestalten zeigten, so legte er dieser verschiedenen Ausbildung der Bakteroiden bei der Frage nach der Artverschiedenheit der Knöllchenbakterien keine ausschlaggebende Bedeutung bei. Er erklärte die einzelnen Zuchten von Knöllchenbakterien als Varietäten ein und derselben Art, die er in zwei Gruppen einteilte. In der ersten Gruppe sind die größeren Kolonien (auf Leguminosengelatine) mehr hyalin. Wachstum auf Fleischwassergelatine schwierig oder überhaupt ausbleibend, durch Rohrzucker und Dextrose gefördert; Schwärmer sehr klein. Bakteroiden zweiarmig oder kugelig oder birnenförmig. Meristem immer in den Knöllchen gegenwärtig. Primäre Rinde der Knöllchen geschlossen: Schleimfäden deutlich. In dieser Gruppe finden sich nach Beijerinck wieder verschiedene Varietäten, nämlich *Bac. radicicola var. Fabae, var. Viciae hirsutae, var. Trifoliarum, var. Pisi, var. Lathyri.* Anschließen dürften sich die *Medicago-, Genista-* und *Melilotus*-Bazillen. In der zweiten Gruppe sind die Kolonien mehr trüblich weiß, opak. Wachstum auf Fleischwasserpeptongelatine etwas ausgiebiger als bei der ersten Gruppe. Schwärmer mehr stäbchenförmig, gewöhnlich länger. Bakteroiden bakterienähnlich, seltener verzweigt. Schleimfäden fehlen oder sind nur wenig entwickelt. In den Knöllchen meist kein Meristem (Ausnahme *Robinia*). Die hierher gehörigen Knöllchen lassen sich zu 3 Typen anordnen: der *Phaseolus*-Typus, der *Lupinus*-Typus und der *Robinia*-Typus.

In einer im Jahre 1890 erschienenen Arbeit hebt Beijerinck (2) jedoch hervor, daß die Unterschiede zwischen den Knöllchenbakterien doch größer seien, als er früher angenommen habe. So gehöre *Bacillus Ornithopi* sicher zu einer anderen Art, aus welchem Grunde die Serradella in unseren Gärten knöllchenfrei bleibe, selbst wenn sie zwischen reich mit Knöllchen versehenen *Vicia*-Arten wachse.

Entschieden für die Arteinheit sprach sich auch Frank aus; die von Hellriegel und Wilfarth beobachtete Verschiedenheit in der Wirkung bestimmter Bodenaufgüsse auf verschiedene Leguminosenarten glaubt er auf die ungleiche Häufigkeit dieser Bakterien in den verschiedenen Böden zurückführen zu können.

Inzwischen hatten sich Nobbe und seine Mitarbeiter Schmid, Hiltner und Hotter (1) eingehend mit der **Artenfrage** der Knöllchenbakterien beschäftigt. Sie stellten zunächst fest, daß die Bakterien der verschiedensten Leguminosen (also auch der Mimosaceen und Caesalpiniaceen) einander morphologisch sehr ähnlich sind. Jedenfalls gelang es ihnen nicht, irgendwelche konstante Unterschiede in der Morphologie der unveränderten Bakterien aufzufinden, und selbst die Eigentümlichkeiten, die Beijerinck veranlaßt hatten, zwei Gruppen von Knöllchenbakterien aufzustellen, konnten sie nicht regelmäßig wahrnehmen. Dagegen haben ihre Versuche einen großen Unterschied im biologischen und physiologischen Verhalten der aus Knöllchen verschiedener Leguminosen in Reinkultur isolierten Bakterien ergeben. Bei ihren mit peinlichster Sorgfalt durchgeführten Impfversuchen stellte sich nämlich heraus, daß die Bakterien aus den Knöllchen einer beliebigen Legu-

minosenart auf diese selbst in bezug auf Schnelligkeit der Knöllchenbildung und stickstoffsammelnden Tätigkeit dieser Knöllchen am besten wirken, während sie auf andere Arten der gleichen Leguminosengattung oder derselben Gruppe eine meist erheblich abgeschwächte Wirkung 5 zeigen und schließlich bei Leguminosengattungen, welche im botanischen Systeme weit voneinander entfernt stehen, meist vollständig versagen. Die einzelnen Arten, Gattungen und Gruppen der Leguminosen zeigen aber in dieser Beziehung wesentliche Unterschiede. So können die Bakterien der *Pisum*- und *Vicia*-Arten einander in ihrer Wirkung fast 10 vollständig vertreten, wenn auch hier mehr oder minder geringe Abstufungen in der Wirkung sich geltend machen. Auch bei anderen Gattungen der Viciaceen, so bei *Lathyrus* und *Lens*, erzeugten die aus Erbsenknöllchen stammenden Bakterien ausnahmslos wirksame Knöllchen. Immerhin kann die Verschiedenheit in der Wirkung auch 15 innerhalb der Viciaceen schon ziemlich weitgehen. Viel weniger leicht erfolgt eine gegenseitige Vertretung der Bakterien in bezug auf Knöllchenbildung innerhalb der Gruppe der Trifolieen. Schon die einzelnen *Trifolium*-Arten zeigen untereinander in dieser Beziehung große Verschiedenheiten, und *Medicago sativa* sahen Nobbe und Hiltner (1) nach 20 Impfung mit sehr wirksamen Bakterien von *Trifolium pratense* in einem sterilisierten Gemisch von Sand und Erde vollständig knöllchenfrei bleiben. Daß selbst bei den Arten ein und derselben Gattung die gegenseitige Vertretbarkeit ihrer Bakterien eine verhältnismäßig geringe sein kann, zeigt in besonders markanter Weise *Lupinus*. Schon die Bakterien 25 von *Lupinus luteus* und *L. angustifolius* verhalten sich ziemlich verschieden voneinander, und O. Kirchner (1) beobachtete, daß unter 14 Lupinenarten, die in Hohenheim dicht neben und zum Teil sogar untereinander auf einer eng begrenzten Fläche seit mehreren Jahren gezogen wurden, zwölf von Anfang an Knöllchen bildeten, während *Lupinus hirsutus* und 30 *L. subcarnosus* vollständig knöllchenfrei blieben. Sehr exklusiv verhielt sich bei den Versuchen von Nobbe und Hiltner in den meisten Fällen *Robinia Pseudacacia*. Selbst die Bakterien von nah verwandten Gattungen, wie *Caragana*, vermochten nur sehr spät bei *Robinia* Knöllchen zu erzeugen. Besonders leicht kann dagegen im Gegensatz zu *Robinia* 35 die Gattung *Phaseolus* durch Bakterien aus Knöllchen anderer Leguminosen infiziert werden. So erzeugen die *Pisum*-Bakterien bei *Phaseolus* stets Knöllchen, die allerdings in der Regel unwirksam bleiben, aber unter gewissen Umständen, namentlich in stickstofffreiem Sande, doch eine geringe Förderung der Pflanze veranlassen können. Auch *Robinia*-40 Bakterien riefen bei *Phaseolus* Knöllchenbildung hervor. Umgekehrt haben die *Phaseolus*-Bakterien in allen Versuchen bei *Pisum* Knöllchen erzeugt, die ebenfalls unter gewissen Umständen eine geringe fördernde Wirkung auf das Wachstum der Pflanzen äußerten, während es andererseits bei einem Versuch nicht gelang, *Robinia* durch *Phaseolus*-Bakterien 45 zu infizieren.

Auf Grund dieser und vieler ähnlicher, bei jahrelang fortgesetzten Versuchen gemachter Wahrnehmungen kamen Nobbe und Hiltner zu der Anschauung, daß die Leguminosenknöllchenbakterien jedenfalls nur Anpassungsformen ein und derselben Art seien. Sehr unter-50 stützt wurde diese Anschauung durch den von Nobbe und Hiltner (2) erbrachten Nachweis, daß es gelingt, die Erbsen- (*Pisum*-) und die Bohnen- (*Phaseolus*-) bakterien ineinander überzuführen. Nach einer später von Hiltner (1) aus dem betreffenden Versuche, auf den wir in § 9

noch ausführlicher zurückkommen werden, abgeleiteten Folgerung, dürfte es sich bei Anpassung der Knöllchenbakterien an Erbsen und Bohnen nur um einen verschiedenen Grad von Virulenz gegenüber den betreffenden Pflanzen handeln.

Andere Forscher, die sich mit der Frage der Arteinheit der Knöllchenbakterien beschäftigten, sind teilweise zu anderen Anschauungen gekommen. Besonderen Anspruch auf Beachtung verdienen namentlich die Beobachtungen von O. Kirchner (1), der unter ungefähr 100 verschiedenen Leguminosenarten, die alljährlich im Garten zu Hohenheim gezogen wurden, allein die Sojapflanzen stets knöllchenfrei bleiben sah. Erst nachdem er Impfungen mit japanischer Sojaerde ausgeführt hatte, entstanden an den Sojapflanzen ausnahmslos große Knöllchen, die auch eine sehr namhafte Wirkung auf die Entwicklung der Pflanzen ausübten. Die aus solchen Knöllchen in Reinkultur gewonnenen Bakterien wichen zwar in ihren morphologischen Eigenschaften in nichts von unseren einheimischen Knöllchenbakterien ab; da sie aber allem Anschein nach in ihrer biologischen und physiologischen Wirkung durch Knöllchenbakterien anderer Leguminosen nicht ersetzt werden können, so waren nach Kirchner alle Merkmale gegeben, die dazu zwangen, die Sojabakterien als besondere Art, *Rhizobacterium japonicum*, anzusprechen. Aber schon Ferd. Cohn hob in einer Anmerkung zu der Kirchnerschen Arbeit hervor, daß im Breslauer botanischen Garten die Sojapflanzen Knöllchen besäßen, ohne daß jemals eine Impfung ausgeführt worden sei, und Hiltner und Störmer (1) ist es später gelungen, es mindestens sehr wahrscheinlich zu machen, daß sich die Lupinenbakterien in Sojabakterien überführen lassen.

Mit Entschiedenheit hat sich Gonnermann (1) für die Ansicht ausgesprochen, daß die Knöllchen unserer einheimischen Leguminosen durch sehr verschiedene Bakterienarten erzeugt werden könnten. Allein aus Lupinenknöllchen konnte er 10' verschiedene Arten von „Knöllchenbakterien" isolieren, die er der Reihe nach als *Bacillus* bzw. *Micrococcus tuberigenus 1, 2, 3, 4* etc. bezeichnete. Selbst *Bacillus fluorescens non liquefaciens* war unter den Knöllchenbakterien vorhanden. Wie aber Hiltner (2) nachgewiesen hat, kann die Gonnermann'sche Arbeit nicht den Anspruch erheben, irgendwie ernst genommen zu werden. Dasselbe gilt für die Angabe des amerikanischen Forschers Schneider (1), der z. B. in Erbsenknöllchen eine zweisporige, bewegliche Art, *Rhizobium Frankii var. minus*, und eine unbewegliche Art, *Rhizobium sphaeroides*, vorgefunden haben will; aus der ganzen Darstellung Schneider's ist klar ersichtlich, daß er vielfach, ohne Rücksichtnahme auf die Ergebnisse anderer Forscher, die Bakteroiden als Bakterienspezies betrachtet.

Wie Beijerinck so fand auch Mazé (1), daß in der ganzen Reihe von einzelnen Formen der Knöllchenbakterien zwei Gruppen zu unterscheiden seien; diese beiden Gruppen sind jedoch mit den von Beijerinck aufgestellten durchaus nicht identisch, schon weil er sie weniger auf morphologische denn physiologische Unterschiede der verschiedenen Knöllchenbakterien gründet. Nur diejenigen Formen, die man in sauren Böden trifft oder durch Züchtung an solche gewöhnt hat, können sich nach Mazé in calcifugen Pflanzen, wie Lupinen, festsetzen, weil nur ihnen das Eindringen in die Wurzelfaser, deren Säure nicht durch den Kalkgehalt des Bodens neutralisiert wird, möglich ist. Für kalkliebende Leguminosen dagegen könnten die in basischen Böden aufgefundenen

und gezüchteten Formen die Funktionen übernehmen. Die Unhaltbarkeit dieser Auffassung konnte jedoch HILTNER (1) nachweisen.

Zu überaus merkwürdigen Folgerungen ist MAZÉ bei seinen Studien über die Formen gelangt, als welche sich die Knöllchenbakterien im Boden vorfinden sollen. Er säte solche Bakterien in sterilisierte und in nicht sterilisierte Erde ein. Während er sie aus ersterer wieder isolieren konnte, gelang dieses nicht aus der nicht sterilisierten Erde. Daraus schließt er nicht etwa, daß die Isolierung von Knöllchenbakterien aus nicht sterilisierter Erde ihre Schwierigkeiten besitze, sondern daß sie sich in der Erde in von den echten Knöllchenbakterien morphologisch und physiologisch verschiedene Formen umwandeln. Bei direkter Aussaat von Erde auf sauren Bohnenagar stellten sich zunächst alle möglichen Arten von Bakterien ein, nur keine Knöllchenbakterien. Alles was auf dem Agarnährboden wuchs, wurde nun ohne Rücksicht auf die verschiedenen Kolonien, also völlig ungetrennt, wiederholt auf frischen Agar übertragen, um eine Anreicherung derjenigen Formen zu erzielen, für die der mit Bohnenextrakt versetzte Nährboden besonders passend sein mußte, nämlich für die Formen der Knöllchenbakterien. Wirklich erhielt MAZÉ auf diese Weise schließlich aus Erde von der Oberfläche zwei Arten von Bakterien, nämlich eisblumenartig wachsende Kolonien *a* und sich sehr ausbreitende, schleimige Kolonien *b*. Es kann *b* aus *a* hervorgehen, und zwar ist *a* das bazilläre, sporenbildende Stadium, *b* ein daraus entstehender *Coccobacillus*. Die Gelatine wird durch *b* stark verflüssigt. Aus einer anderen Erde isolierte MAZÉ eine dritte Form, *c*, die den Knöllchenbakterien ähnlich war. Keine dieser drei Formen kann für sich allein Knöllchen bilden, und auch $a + b$ oder $a + c$ sind dies nicht imstande. Nur die Genossenschaft $b + c$ hat die Eigenschaft der Knöllchenbakterien. Endlich erhielt MAZÉ aus einer eingetrockneten Kolonie eine konidienabschnürende *Oospora*, die ebenfalls eine Umwandlungsform der Knöllchenbakterien darstellen soll. Alle diese Angaben von MAZÉ, die vielfach ohne Kritik sogar in landwirtschaftliche Blätter übergingen, entsprechen aber durchaus nicht den Tatsachen.

War es somit nicht gelungen, die neuerdings auch von BUHLERT (1) vertretene Anschauung von NOBBE und HILTNER, daß sich das verschiedene Verhalten der Knöllchenbakterien lediglich durch Anpassung derselben an bestimmte Wirtspflanzen erklären lasse, zu erschüttern, so blieben doch verschiedene Gründe, die g e g e n d i e A r t e i n h e i t sprechen, nach wie vor bestehen. HILTNER (1) selbst hat auf sie bereits im Jahre 1900 hingewiesen und hat dabei besonders hervorgehoben, daß sich die Serradella- und Lupinenbakterien bezüglich ihrer Ansprüche an künstliche, feste Nährböden wesentlich anders verhalten als die Erbsen-, Wicken-, Klee-, Robinia- und die meisten übrigen Leguminosenbakterien. Diese Beobachtung und die damit im Zusammenhang stehende Schwierigkeit, überhaupt Reinkulturen von Lupinen- und Serradellabakterien zu erhalten, gaben ihm Veranlassung, im Verein mit K. STÖRMER (1) die Frage der Arteinheit der Knöllchenbakterien aufs neue eingehend zu studieren. Dabei ließ sich feststellen, daß sich die Knöllchenbakterien in zwei ziemlich scharf zu trennende Gruppen scheiden lassen, die sich sowohl in morphologischer als in physiologischer und biologischer Beziehung unterscheiden. Diese beiden Gruppen werden vorläufig als zwei verschiedene Arten, *Rhizobium radicicola* und *Rhizobium Beijerinckii* H. et ST., aufgefaßt, solange nicht erwiesen ist, daß sie sich ineinander überführen lassen. Der hervortretendste Unterschied im

physiologischen Verhalten dieser beiden Arten ist, daß *Rhizobium Beijerinckii* gar nicht oder nur sehr schwer auf gelatinösen Nährböden zum Wachsen zu bringen ist. Zu dieser Art, die nur auf Agar gedeiht, gehören die Erreger der Wurzelknöllchen von Lupinen, Serradella, (Esparsette?) und Soja, während die gelatinwüchsige Art, *Rhizobium radicicola*, vorläufig alle übrigen Knöllchenbakterien umfaßt. Jede dieser beiden Arten würde demnach eine Reihe von Anpassungsformen umfassen, die sich ineinander überführen lassen.

§ 8. Entstehung und Ausbildung der Wurzelknöllchen bei den Leguminosen.

Knöllchenbakterien sind in Luft und Wasser nicht selten, in der Ackererde sehr häufig anzutreffen. Nobbe, Schmid, Hiltner und Hotter haben über das Vorkommen in Erde einige quantitativ-bakteriologische Untersuchungen angestellt. Von der Erde aus wandern diese Bakterien dann in die Wurzeln der ihnen zusagenden Pflanzen ein. Beijerinck (1) nahm an, daß die Schwärmer, die nur eine Länge von 0,9 μ und eine Breite von 0,18 μ erreichten und also zu den kleinsten von allen bisher bekannten Lebewesen gehörten, die Fähigkeit hätten, infolge dieser geringen Größe die Poren der Zellmembranen zu passieren und auf diese Weise in das Innere der Wurzelzellen zu gelangen. A. Prażmowski (1), dem zuerst die künstliche Hervorrufung von Knöllchenbildung mit einer Reinkultur von Knöllchenbakterien, und zwar bei der Erbse, gelang, konnte jedoch feststellen, daß, mindestens bei der Erbse, die Eingangspforten der Bakterien die Wurzelhaare darstellen. Die Spitzen derselben erleiden durch die Einwirkung der äußerlich ansitzenden Bakterien eigentümliche Formveränderungen. Sie verkrümmen sich hirtenstabähnlich, und sehr bald nimmt man wahr, daß sich an der betreffenden Stelle des Wurzelhaares im Innern eine schleimige Kolonie der Bakterien ansammelt, von welcher aus sich ein glänzender, mit Bakterien erfüllter Schlauch abzweigt, der sich den Rindenzellen zuwendet und sich darin verzweigt (vgl. *Fig. 6*). Durch sein Vorschreiten und die damit einhergehende außerordentliche Vermehrung der aus den Schläuchen allmählich sich frei machenden Bakterien werden diese Zellen zu lebhafter Teilung angeregt und drängen sich dicht, wodurch ihr Umriß vieleckig wird. Dadurch entsteht das schon genannte **Bakteroidengewebe.** In diesem Gewebe selbst hat man schon lange vor Prażmowski die eigentümlichen, schlauch- oder fadenartigen Bildungen wahrgenommen. Frank hielt sie eine Zeitlang für das Mycel eines selbständigen, höheren Pilzes aus der Gattung *Schinzia*, den er *Schinzia leguminosarum* nannte. Auch andere Forscher bezeichneten sie als Pilz- oder *Plasmodien*-Stränge.

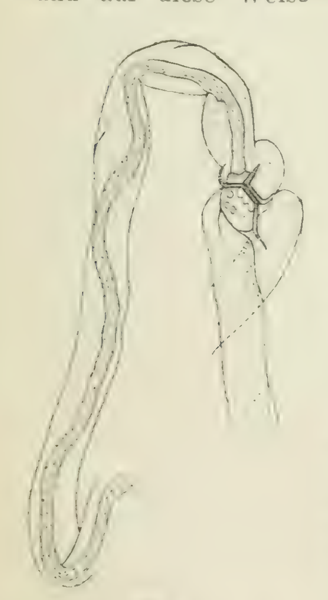


Fig. 6.
Wurzelhaare von *Pisum sativum* mit Infektionsfäden. Nach Prażmowski.

Beijerinck (1) verkannte noch ihren Zusammenhang mit den Bakterien und hielt sie anfangs für die Ueberbleibsel der Kernteilung der Knöllchenzellen, weshalb er sie als Kerntonnenfäden bezeichnete. Ihrem, erst von Prażmowski erkannten, wahren Wesen hat Frank (3) dann später durch den neuen Namen **Infektionsfaden** Rechnung getragen, nachdem er vorher die Auffassung Prażmowski's heftig bekämpft hatte. Die durchaus zutreffende Beobachtung, daß die Knöllchen an den Wurzeln nicht regellos verteilt sind, sondern meist eine bestimmte Anordnung besitzen, hatte ihn nämlich auf die Idee gebracht, daß diese regelmäßige Verteilung der Knöllchen einem ganz bestimmten Plan entspreche, der bezwecke, Knöllchen nur da entstehen zu lassen, wo sie für die Wirtspflanze besonders nutzbringend werden könnten. Er suchte nun gegenüber Prażmowski zu beweisen, daß die von diesem Forscher beobachteten, die Wurzelhaare durchziehenden „Schleimfäden" nicht von den Bakterien, sondern vielmehr von der Wirtspflanze selbst und zwar an voraus bestimmten Stellen gebildet würden, und gab dieser Anschauung Ausdruck, indem er diese Fäden als „Fangfäden" bezeichnete. Eine weitere Veranlassung zu dieser Annahme war für Frank auch die eigentümliche Tatsache, daß die Fäden von einer membranartigen Hülle umgeben sind, die, wie er meinte, nur aus dem Plasma der Wurzelhaare bzw. Knöllchenzellen hervorgegangen sein könnte. Beijerinck (3), der den Befund von A. Koch (1) bestätigte, daß sich diese Hülle mit Chlorzinkjod blau färbt, also aus einer der Cellulose verwandten Substanz besteht, konnte aber nachweisen, daß sie lediglich aus den schleimig gewordenen äußeren Schichten der Bakterienmembranen hervorgeht.

Der Bau und Verlauf des Infektionsfadens in den Knöllchenzellen ist in Schnittpräparaten gut erkennbar, die man in ein Färbebad eingelegt hat, hergestellt durch Auflösen von gleichen Teilen Fuchsin und Methylviolett in 1-proz. Essigsäure. Dadurch wird der plasmatische Inhalt wie auch die Membran der Knöllchenzellen blaugefärbt, während die Bakterien der Infektionsfäden rot, die Hülle der letzteren aber gar nicht gefärbt werden. Nicht bei allen Leguminosenarten sind die Infektionsfäden so schön ausgebildet wie bei Erbsen und Wicken. Bei Lupinen sollen sie nach Frank überhaupt nicht vorkommen, während sie nach Hiltner bei Lupinen und Serradella zwar auch vorhanden sind, aber meist sehr frühzeitig zerfallen.

In den Zellen des Bakteroidengewebes erfahren nun die eingedrungenen und sich vermehrenden Bakterien, in dem Maße, wie die Ausbildung der Knöllchen fortschreitet, höchst auffallende Veränderungen, indem sie sich allmählich in jene meist vielmals größeren Gebilde umwandeln, die man als **Bakteroiden** zu bezeichnen pflegt. Schon Beijerinck und nach ihm Prażmowski haben diese Umwandlung der Bakterien richtig beobachtet und bildlich dargestellt (vgl. *Fig* 7). Frank aber ist ihrer Auf-

Fig. 7. Die Entwicklung von Bakterien (*a*) zu Bakteroiden (*b—d*) in den Wurzelknöllchen von *Vicia sativa*. — Nach Beijerinck.

fassung mit Schärfe entgegengetreten und hat dadurch den an sich schon vollständig geklärten Sachverhalt nicht wenig verwirrt. Daß er vor Erscheinen der Arbeiten der letztgenannten zwei Forscher gegenüber HELLRIEGEL behauptete, die Knöllchenbildung würde gar nicht durch Organismen veranlaßt, und die in ihnen eingeschlossenen bakterienähnlichen und gerade deswegen von BRUNCHORST als Bakteroiden bezeichneten Gebilde seien von den Leguminosenpflanzen selbst erzeugte Eiweißkörperchen, wurde schon im § 6 hervorgehoben. Aber auch nachdem sowohl von BEIJERINCK als auch von PRAŹMOWSKI die Entstehung der Bakteroiden aus den eingedrungenen Knöllchenbakterien fast einwandfrei nachgewiesen war, gab FRANK seinen Irrtum nicht auf; er behauptete nun, die in die Wurzel eindringenden oder vielmehr durch die „Fangfäden" von der Pflanze eingefangenen kokkenartigen Knöllchenbakterien blieben innerhalb der Knöllchen völlig unverändert, würden aber im Bakteroidengewebe von den aus Plasmateilen der Leguminosenpflanzen bestehenden Bakteroiden eingeschlossen und ließen sich jeder Zeit in diesen nachweisen. Nach Auflösung der Bakteroiden zur Zeit der Fruchtbildung würden die Bakterien frei und gelangten wieder in den Boden. Durch diese innige Verbindung von Plasmateilen der Wirtspflanze mit den Bakterien entstände ein Plasma ganz besonderer Art, das Mykoplasma, dessen geheimnisvolle Wirkung der Wirtspflanze in besonders hohem Grade die Fähigkeit verleihe, Stickstoff zu sammeln.

Doch auch mit diesen Untersuchungen hat FRANK offenbar wenig Glück gehabt; denn NOBBE und HILTNER (3) konnten zunächst bei *Robinia Pseudacacia* und später bei verschiedenen anderen Leguminosenarten die Entwicklung der Bakteroiden aus den Bakterien innerhalb der Knöllchen Schritt für Schritt verfolgen, und später ist es sogar gelungen, Bakteroiden außerhalb der Wirtspflanze künstlich aus Knöllchenbakterien zu züchten. Da NOBBE und HILTNER es im höchsten Grad wahrscheinlich machen konnten, daß die Stickstoffassimilation der Leguminosenpflanzen mit der Bakteroidenbildung in den Wurzelknöllchen in Zusammenhang stehe, und infolgedessen der ganze Vorgang der Bakteroidenbildung für die Erkenntnis der Beziehungen zwischen Wirtspflanzen und Bakterien von ausschlaggebender Bedeutung ist, so finden sich die weiteren über die Bakteroidenfrage vorliegenden Forschungsergebnisse im nächsten Paragraphen besonders zusammengestellt.

Gleichen Schritt mit der Vermehrung und Umbildung der eingewanderten Bakterien hält die Entwicklung des Knöllchens, das nicht nur an Größe zunimmt, sondern auch an stickstoffhaltigen Verbindungen reicher wird. Dieses allmähliche Anwachsen des Gehaltes an gebundenem **Stickstoff in den Knöllchen,** sowie deren Reichtum daran im Vergleich zu dem der übrigen Wurzelteile ist von J. STOKLASA (1) quantitativ-analytisch verfolgt worden. Von den von ihm erhaltenen Zahlenergebnissen sind in der nachstehenden Tabelle einige zusammengestellt, welche sich auf gelbe Lupinen beziehen:

Stickstoff-Gehalt der Trockensubstanz von	Zur Zeit der Blüte	Zur Zeit des Fruchtansatzes	Nach erlangter Reife d. Frucht
	Proz.	Proz.	Proz.
Wurzelknöllchen	5,2	2,6	1,7
Knöllchenfreien Wurzeln	1,6	1,8	1,4

Daß dieser Stickstoff der Wurzelknöllchen hauptsächlich in Form von Eiweiß zugegen war, lehrt die folgende Tabelle:

Prozentischer Gehalt der Trockensubstanz der Knöllchen	an Stickstoff in Form von		
	Eiweiß	Amiden	Asparagin
Zur Blütezeit	3,99	0,35	0,34
Nach der Reife der Frucht	1,54	0,15	Spuren

Diese Zahlenangaben werden noch von zwei, von A. B. FRANK ermittelten Befunden übertroffen, denen zufolge der Stickstoffgehalt einiger von ihm untersuchten Erbsenknöllchen 6,94 Prozent und jener von Buschbohnenknöllchen sogar 7,44 Proz. betrug. Unter Zugrundelegung des Faktors 6,25 würde dies einem Eiweißgehalte von 43,4 bzw. 46,5 Proz. entsprechen.

Jeder Schnitt durch ein ausgebildetes Knöllchen lehrt, daß dieser Eiweißreichtum hauptsächlich im Bakteroidengewebe abgelagert ist. Dieses selbst ist von einer Rindenschicht umgeben, und nach außen ist das Knöllchen vollständig durch eine mehrfache Korklage abgeschlossen. In der Rinde verlaufen regelmäßig angeordnete Gefäßbündel; die Zellen ihres parenchymatischen Gewebes sind meist mit Stärkekörnchen angefüllt, und zwar auch bei solchen Leguminosenarten, die in ihrem Samen keine Stärke enthalten. Ein schematischer Schnitt durch ein Knöllchen wird in *Fig. 8* vorgeführt.

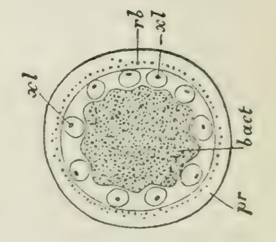


Fig. 8. Querschnitt durch ein Knöllchen von *Vicia sativa*. *pr* die primäre Rinde mit (spärlichen) Rindenbakterien *rb*; *xl* die Gefäßbündel mit je einem Xylemstrang; *bact.* das mächtig entwickelte Bakteroidengewebe. — Vergr. 10. Nach BEIJERINCK.

§ 9. Über die Ursachen, welche die Größe, Zahl, Stellung und Wirkung der Wurzelknöllchen bedingen.

In einer ausführlichen Arbeit, welche den gleichen Titel führt wie die Ueberschrift dieses Paragraphen, hat HILTNER (2) einige bis dahin teils völlig unbekannt, teils unbeachtet gebliebene Erscheinungen besprochen, die erst einen richtigen Einblick in das Wesen und die Bedeutung der Knöllchenbildung gewähren.

Nach der Auffassung, der man auch heute noch fast in jeder Darstellung über die Beziehungen der Knöllchenbakterien zu den Leguminosenpflanzen begegnet, sollen dieselben ein besonders schönes Beispiel einer sog. **Symbiose** bieten, d. h. des Zusammenlebens zweier ganz verschiedener Organismen zu gegenseitiger Förderung. Im vorliegenden Falle soll die Symbiose darin bestehen, daß die Bakterien der Wirtspflanze den Stickstoff liefern, während sie von dieser den zu ihrer Ernährung unentbehrlichen Kohlenstoff in geeigneter Form erhalten. Beide Genossen hätten also auf diese Weise Vorteil voneinander, wenn auch das Eingehen eines so innigen Freundschaftsverhältnisses für die Bakterien mit nicht geringen Opfern erkauft werden müßte. Wie man sich nämlich, namentlich nach den Angaben von FRANK, die Gewinnung des Stickstoffs durch knöllchenbesitzende Pflanzen vielfach denkt, lehren folgende Ausführungen

in L. Jost's erst im Jahre 1904 erschienenen Vorlesungen über Pflanzenphysiologie: „In der Mehrzahl der Zellen der Knöllchen trifft man Unmassen des *Bacterium radicicola* an, das späterhin in eigentümlicher Weise degeneriert, indem es große, kugelige oder verzweigte, eiweißreiche „Involutionsformen" annimmt. Diese Involutionsformen („Bakteroiden") werden dann von der Leguminose als Eiweißreserven behandelt, d. h. sie werden aufgespart und zur Fruchtbildung verwertet. Nur ein Teil der Bakterien aber verwandelt sich zu solchen Bakteroiden und fällt der Leguminose zum Opfer, ein anderer Teil persistiert, gelangt nach dem Zugrundegehen des Knöllchens in die Ackererde und kann im nächsten Jahre neuerdings Leguminosen anstecken." Frank hat die Vorgänge in den Wurzelknöllchen der Leguminosen (und jenen der Erlen und Elaeagnaceen [vgl. § 12]) direkt mit denjenigen bei insektenfressenden Pflanzen verglichen. „Die pilzfressenden Pflanzen, um die es sich hier handelt", so schreibt er „wissen mit noch raffinierteren Einrichtungen Pilze als ihre auserkorenen Opfer in ihr Protoplasma einzufangen, darin groß zu züchten und schließlich zu verdauen, um so von der reichen Eiweißproduktion der Pilze Nutzen zu ziehen. Es geht hierbei also der eine der beiden Symbionten im Organismus des anderen derart auf, daß er wie ein stofflicher Bestandteil des letzteren erscheint, der im Stoffwechsel schließlich verbraucht wird".

Tatsächlich liegen die Verhältnisse aber ganz anders. Daß es sich bei dem Eindringen der Bakterien in die Wurzeln nicht um ein Einfangen derselben durch die Pflanzen handelt, wurde schon in § 8 dargelegt. In Wirklichkeit verhalten sich die Bakterien der Pflanze gegenüber, mindestens anfangs, wie reine Parasiten, deren sich die Pflanze mit aller Kraft zu erwehren sucht; das Verhältnis zwischen den Bakterien und der Wirtspflanze ist kein Freundschaftsverhältnis, auch nicht in dem von Jost angegebenen Sinn, daß die Pflanze einen Teil der Bakterien verschont, sondern ein richtiges **Kampfverhältnis**; die Bakteroiden tätiger Knöllchen stellen durchaus keine Involutionsformen dar, die Stickstoffassimilation beruht nicht auf der Verdauung der Bakteroiden, und am allerwenigsten trifft die Annahme zu, daß der Eiweißreichtum dieser Bakteroiden erst zur Zeit der Fruchtbildung den Wirtspflanzen zugute komme. Richtig ist vielmehr, daß die Pflanze die eingedrungenen Bakterien nur dann zu resorbieren vermag, wenn entweder die Bakterien an die betreffende Pflanzenart nicht vollkommen angepaßt sind, wenn sie mit anderen Worten, wie Hiltner angibt, dieser Pflanzenart gegenüber nicht virulent genug sind, oder wenn die Pflanzen in ihrem Kampfe gegen die Bakterien längere Zeit hindurch reichlich mit Bodenstickstoff versorgt und dadurch besonders gekräftigt werden. Erfolgt eine solche Resorption, so geht dieser Resorptionsprozeß schon sehr frühzeitig vor sich und es unterbleibt jede Stickstoffassimilation; in den meisten Fällen aber vermögen sich die Bakterien gerade durch die Umwandlung in Bakteroiden vor der Resorptionskraft der Pflanzen zu schützen und im letzten Grunde ist die Stickstoffassimilation darauf zurückzuführen, daß die Pflanzen den Bakteroiden beständig Eiweiß entziehen, daß diese aber den Verlust eben durch Assimilation des freien Stickstoffes wieder zu ersetzen vermögen, ohne dabei an Lebenskraft einzubüßen. Nur in diesem Sinne entwickelt sich allmählich ein symbiotisches Verhältnis zwischen den ursprünglichen Gegnern.

Sehen wir zu, wie Hiltner diese Auffassung verteidigt. Er war zunächst der erste, der auf die eigentümlichen **Virulenzverhältnisse** der

Knöllchenbakterien hingewiesen hat. Frank hat zwar im Jahre 1899 ebenfalls von der Virulenz der Knöllchenbakterien gesprochen; aber er dachte hierbei nur an die tatsächlich leicht vermeidbare Abnahme derselben auf künstlichen Nährböden, während Hiltner seine Anschauungen über die Virulenz der Knöllchenbakterien auf langjährige Studien über deren eigentümliche Anpassungsverhältnisse gründet. Bei dem schon im § 7 erwähnten, auf Tafel II vorgeführten Versuche von Nobbe und Hiltner, Erbsenbakterien in Bohnenbakterien überzuführen, wurden in sterilisiertem, mit stickstoffreien Nährstoffen versehenem Quarzsande in einer Reihe von Vegetationsgefäßen gezogene Pflanzen von *Phaseolus vulgaris* mit Reinkulturen von Knöllchenbakterien geimpft, die gewonnen waren: 1. aus wirksamen Erbsenknöllchen, 2. aus wirksamen Bohnenknöllchen und 3. aus Bohnenknöllchen, welche im Jahre zuvor durch Impfung von Bohnenpflänzchen mit Erbsenbakterien entstanden waren, aber keine Wirkung ausgeübt hatten. Bei einem Parallelversuch wurden mit denselben Bakterien Erbsenpflanzen geimpft, die unter gleichen Verhältnissen wuchsen. Die Stickstoffmenge in der geernteten, oberirdischen Pflanzenmasse im Mittel mehrerer Vergleichsreihen betrug in *mg:*

		Impfung mit		
	1. Ungeimpft	2. reinen Erbsenbakterien	3. reinen Bohnenbakterien	4. Erbsenbakterien aus Bohnenknöllchen
Stickstoff-Ernte in mg, bei der Erbse	89	743	76,5	366
Stickstoff-Ernte in mg, bei der Bohne	171	173	1968	1473
Durchschnittliche Zahl der Knöllchen einer Bohnenpflanze	0	255	575	446
Trockensubstanz der gesamten Knöllchen von je 8 Bohnenpflanzen in g	0	1,022	4,260	2,349

Während die bei Bohnen durch reine Bohnenbakterien entstandenen Knöllchen ein normal ausgebildetes Bakteroidengewebe besitzen, erscheinen in Bohnenknöllchen, die durch reine Erbsenbakterien erzeugt werden und gänzlich unwirksam sind oder nur eine geringe Stickstoffsammlung bewirken, mit Bakteroiden angefüllte Zellen nur nesterweise in einem sonst parenchymatischen, bakterienfreien Gewebe. An ungeimpft gebliebenen gelben Lupinen hat Hiltner später, namentlich auf Hochmoorböden bei Bremen, sogar überaus große Knöllchen gefunden, die meist überhaupt kein Bakteroidengewebe mehr enthielten, sondern gänzlich aus einem parenchymatischen Gewebe bestanden. Namentlich in den peripherischen Teilen dieses Gewebes besaßen die Zellkerne eine auffallende Größe, färbten sich mit Jodtinktur rotbraun, und sichere Anzeichen wiesen darauf hin, daß durch diese Kerne eine Resorption der eingedrungenen Bakterien erfolgt war. Während die betreffenden Pflanzen ausgeprägten Stickstoffhunger litten, durch ihre Knöllchen also trotz der Resorption der Bakterien keine Förderung erfuhren, entwickelten sich dicht danebenstehende, mit virulenten Lupinenbakterien geimpfte Pflanzen überaus üppig; in den Knöllchen dieser Pflanzen war ein normales Bakteroidengewebe enthalten. Die Beobachtungen an den unwirksamen Knöllchen tun deutlich dar, daß die **Kerne** in den Knöllchenzellen eine bedeutsame Rolle spielen. Tatsächlich kann man beobachten, wie die Infektionsfäden bei Erbsen, so bald sie von dem Wurzelhaar aus in das Rindengewebe der Wurzel gelangen, meist auf die Zellkerne zuwandern. Und bei dem zwischen Kern und Bakterien sich ent-



Phaseolus vulgaris.

1. Ungeimpft. 2. Geimpft mit Bakterien aus Knöllchen von Phaseolus vulgaris. 3. Geimpft mit Bakterien aus Knöllchen von Pisum sativum. 4. Geimpft mit Bakterien aus Knöllchen von Phaseolus vulgaris, die durch Impfung mit Erbsenbakterien entstanden waren.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**



spinnenden Kampfe mag wohl stets eine Resorption eines Teiles der Bakterien erfolgen; die Kerne selbst aber bleiben meist erhalten, sofern nicht die Bakterien besonders virulent sind. Man ersieht daraus, daß Beijerinck (1), als er die Schleimfäden als Kerntonnen bezeichnete, ganz richtig beobachtete und nur diese Beobachtung falsch deutete.

Daß sich die Virulenz der Knöllchenbakterien bestimmten Pflanzenarten gegenüber auch sehr erheblich steigern läßt, sogar bis zu dem Grade, daß die Bakterien als reine Parasiten wirken, haben schon Nobbe und Hiltner (3) nachgewiesen, und später erbrachten Hiltner und Störmer (1) dafür noch verschiedene Belege.

Je nach dem **Virulenzgrad** der Knöllchenbakterien bestimmten Pflanzenarten gegenüber kann man folgende Abstufungen unterscheiden:

1. Die Bakterien vermögen überhaupt nicht in die Wurzeln einzudringen. Dies ist z. B. der Fall, wenn man Bohnenpflanzen mit Bakterien aus Rotkleeknöllchen impft. Es mangelt diesen Bakterien anscheinend an jenem jedenfalls enzymatischen Stoff, welcher der Membran der Wurzelhaare der Bohnen gallertige Beschaffenheit verleiht und dadurch den Bakterien erst das Eindringen ermöglicht. Da Kleebakterien derselben Reinkultur in Kleewurzeln sofort eindringen, so ergibt sich daraus, daß nicht das Enzym, der „Angriffsstoff“ der Bakterien, an sich fehlt, sondern nur das auf Bohnen wirkende. Durch allmähliche Anpassung werden aber auch Kleebakterien befähigt, in die Bohnenwurzeln einzudringen; die Eigenschaften des Enzyms sind also wandelbar. Sehr unwahrscheinlich ist, daß sich auch *Rhizobium Beijerinckii* in *Rhizobium radicicola* überführen läßt, daß es also beispielsweise gelänge, Lupinenbakterien in Bohnenbakterien überzuführen. Bestände diese Möglichkeit, so müßte natürlich die Trennung in zwei Spezies fallen; über diese Frage können nur weitere Versuche entscheiden.

2. Die Bakterien dringen zwar in die Wurzeln ein, werden aber sofort resorbiert, weil sie der Pflanze gegenüber zu schwach sind, und es kommt nur zu unbedeutenden Wurzelanschwellungen, die später wieder vollständig verschwinden. Diesen Fall beobachtete Hiltner bei Lupinen in Wasserkultur, die mit sehr schwachvirulenten Lupinenbakterien geimpft worden waren.

3. Die Bakterien dringen in die Wurzeln ein und erzeugen auch Knöllchen, aber dadurch, daß die Bakterien vollständig oder zum größten Teil von den Zellkernen resorbiert werden, bleiben diese Knöllchen unwirksam. Hierher gehören die oben angeführten Beispiele von unwirksamen Lupinenknöllchen und verschiedene von Nobbe und Hiltner beschriebene Fälle.

4. Die Bakterien erzeugen wirksame, d. h. stickstoffsammelnde Knöllchen. Je nach dem Virulenzgrad (und dem Stickstoffsammlungsvermögen) der Bakterien ist die Wirksamkeit solcher Knöllchen aber sehr verschieden groß. In einem Boden, der bereits wirksame Bakterien enthält, kann daher durch Impfung mit virulenten Bakterien die Stickstoffsammlung noch beträchtlich gesteigert werden; nähere Beweise hierfür werden im § 11 erbracht.

5. Die Virulenz der Bakterien ist so groß, daß die Pflanzen im Vergleich zu solchen, deren Knöllchen durch weniger virulente Bakterien erzeugt wurden, eine Schädigung erfahren.

6. Die Bakterien erweisen sich der Pflanze gegenüber, namentlich wenn diese ungünstig ernährt wird oder durch sonstige Einflüsse geschwächt ist, als reine Parasiten. Sie verwandeln sich innerhalb der

Knöllchen nicht in Bakteroiden. Die Stickstoffsammlung unterbleibt deshalb und die Ernährung der Bakterien erfolgt ausschließlich auf Kosten der Pflanzen: es tritt Bakterienüberwucherung ein, über die auch schon Beijerinck Angaben machte.

Das Vorkommen von Knöllchen an den Wurzeln von Leguminosenpflanzen ist also nicht immer ein sicherer Beweis dafür, daß die Pflanze aus ihnen Nutzen zieht.

Bei Impfversuchen, die Nobbe und Hiltner (4) mit Wicken ausführten, wurde versucht, ob es möglich sei, durch Steigerung der Impfmenge auch die Zahl und das Stickstoffsammlungsvermögen der Knöllchen zu steigern. Obgleich die Menge der bei den einzelnen Pflanzen in den Wurzelbereich gebrachten Bakterien in den beiden extremsten Fällen voneinander um das 10000fache abwich, zeigte sich zwischen den so verschieden behandelten Wickenpflanzen nicht der geringste Unterschied. Das subtile Gleichgewicht, welches offenbar zwischen dem Wachstum der Pflanzen und dem der Bakterien besteht, kann also durch eine größere Menge der letzteren nicht gestört werden.

Ganz anders aber verhält sich die Sache, wenn wir Pflanzen, die bereits tätige Knöllchen besitzen, nachträglich noch mit Bakterien höherer Virulenz impfen. In diesem Falle wird durch die zweite Impfung die Zahl und Größe der Knöllchen und die Gesamtwirkung der Impfung noch bedeutend gesteigert. Tätige Knöllchen verleihen der Pflanze Immunität gegen Bakterien von gleichem oder niedrigerem Virulenzgrad, als ihn die in den Knöllchen bereits enthaltenen Bakterien besitzen; nur Bakterien von höherer Virulenz vermögen noch in die Wurzel einzudringen.

Für diese in der Pflanzenwelt bisher einzig dastehende Tatsache hat Hiltner verschiedene Beweise erbracht. Die bei Verwendung der Wasserkulturmethode in Nährlösung an den Wurzeln sich bildenden Knöllchen der Leguminosen wirken (im Gegensatz zu jenen der Erle [vgl. § 12]) nur in sehr geringem Maße stickstoffsammelnd. Gießt man jedoch einen Teil der Nährflüssigkeit ab, so daß die oberen Wurzelpartien samt den ansitzenden Knöllchen über Wasser sich befinden, so stellt sich alsbald ein kräftiges Wachstum dieser Knöllchen und damit eine sehr bedeutende Förderung der Pflanze ein. Diese Beobachtung, die Nobbe und Hiltner (5) zunächst bei *Robinia* machten, hat ebenso für Wicken und Erbsen und wahrscheinlich für die meisten Leguminosen Gültigkeit, abgesehen vielleicht von jenen Arten, die, wie *Neptunia*, dauernd im Wasser leben. Bei solchen Versuchen aber läßt sich, wie Hiltner nachwies, noch eine andere überaus auffallende Tatsache konstatieren. In dem Falle nämlich, in welchem die gesamten Wurzeln der Pflanzen in die Nährlösung eingetaucht sind und also die Knöllchen nur wenig zur Wirksamkeit gelangen, finden sich diese meist überaus zahlreich und in gleichmäßiger Verteilung und Größe an allen Wurzelpartien, während im anderen Falle, in welchem die über Wasser befindlichen Knöllchen eine sehr große Wirksamkeit auf das Wachstum der Pflanzen ausüben, die in das Wasser eintauchenden Wurzelteile fast knöllchenfrei bleiben, auch wenn man wiederholt Impfungen mit Reinkulturen oder Knöllcheninhalt ausführt.

Eine sehr wesentliche Stütze erhält die Immunitätslehre auch durch die Stellungsverhältnisse der Knöllchen an den Wurzeln. Es ist jedem Forscher, der sich eingehend mit den Wurzelknöllchen be-

schäftigte, aufgefallen, daß dieselben meist nicht regellos an den Wurzeln verteilt sind, sondern, namentlich bei krautigen Pflanzen, an den oberen Wurzelpartien, also möglichst nahe der Bodenoberfläche gehäuft sitzen und weiter nach unten meist rasch an Größe und Zahl abnehmen. Gegenüber der geltend gemachten Anschauung, daß hier deutlich das Sauerstoffbedürfnis der Knöllchen bzw. der in ihnen lebenden Bakterien zum Ausdruck gelange, konnten bereits Nobbe und seine Mitarbeiter geltend machen, daß z. B. die Erbse auch an tiefstreichenden Wurzeln wirksame Knöllchen zu bilden vermag, sobald Bakterien auch in tiefere Schichten des Bodens, und wie Hiltner später nachwies, nur in solche eingeführt werden. An den unteren Wurzelteilen entstehen größere und normale Knöllchen nämlich nur dann, wenn die oberen aus irgend einem Grunde mehr oder minder frei von wirksamen Knöllchen bleiben; bei Wurzeln, die man sofort nach der Keimung mit Erfolg impft, bleibt eine nachträgliche Impfung von unten erfolglos. Die gesetzmäßige Anordnung, auf die zuerst mit Nachdruck hingewiesen zu haben, das Verdienst Frank's ist, erklärt sich also nicht, wie dieser Forscher meinte, dadurch, daß die Knöllchen nur dort entstünden, wo ihr Vorhandensein für die Pflanzen besonders zweckmäßig sei, sondern sie ist auf eine gegenseitige Beeinflussung der Knöllchen zurückzuführen. Enthält ein Boden Knöllchenbakterien, so wird in der Regel, falls er nicht zu reich an löslichen, von der Pflanze aufnehmbaren Stickstoffverbindungen ist, schon die Keimwurzel infiziert, und die dadurch sich in höheren Bodenschichten bildenden Knöllchen verhindern die weitere Entwicklung von Knöllchen an tieferen Wurzelpartien, vorausgesetzt, daß sie wirklich Stickstoff sammeln. Es darf angenommen werden, daß diese Immunisierung nicht nur durch die Kräftigung der Pflanze selbst sondern durch einen Stoff bewirkt wird, den die Pflanze den Bakterien entzieht und den sie, indem sie ihn zu ihrer Ernährung verwendet, in alle ihre Organe leitet. Dagegen spricht vorläufig nichts dafür, daß die von Knöllchenbakterien befallenen Leguminosenpflanzen Antikörper bilden, wie Süchting (1) annimmt. Die von Tschirch erörterte Tatsache, daß sich die Infektion der Knöllchenbakterien ausschließlich auf die Wurzeln beschränkt, und der von Zinsser (1) auf experimentellem Wege erbrachte Beweis dafür, daß sich die Knöllchenbakterien außerhalb der Knöllchen in den übrigen Teilen der Wurzeln nicht verbreiten können, dürften an dieser Stelle ebenfalls zu erwähnen sein. Jedenfalls ist es durchaus unzutreffend, was Frank für *Phaseolus* und Naudin für alle Leguminosen behauptete, daß die Knöllchenbakterien alle Pflanzenorgane durchwachsen könnten und sich infolgedessen auch innerhalb der Samen vorfänden.

Ist die Anschauung richtig, daß sich die Knöllchenbakterien zunächst wie **Parasiten** verhalten, gegen deren Eindringen die Pflanze sich wehrt, so erscheint es fast selbstverständlich, daß Größe, Zahl und Wirkung der Knöllchen ebenso wie von den Eigenschaften der eindringenden Bakterien so auch von der Kraft und Widerstandsfähigkeit, hauptsächlich also von dem Ernährungszustand der Wirtspflanze, abhängen. Tatsächlich ist die Angabe sehr häufig zu finden, daß in gutem, humosem Boden die Knöllchenbildung eine schwächere ist, als in dürftigeren Bodenarten. Nobbe und Hiltner konnten außerdem über zahlreiche Fälle berichten, in denen bei Impfungen mit nicht völlig angepaßten Bakterien, sofern dieselben überhaupt Knöllchenbildung veranlaßten, diese Knöllchen immer erst an tief streichenden Wurzeln und mehr an deren Endigungen entstanden, zum Beweis dafür, daß die

Bakterien erst in die Wurzeln einzudringen vermochten, als die Pflanzen die Reservestoffe des Samens bzw. die aus dem Boden zur Verfügung stehende Stickstoffmenge erschöpft hatten. Daß hierbei der Stickstoff die Hauptrolle spielt, davon überzeugt man sich leicht, wenn man Leguminosenpflanzen in Wasserkultur zieht: Solange die Nährlösung eine von der Pflanze aufnehmbare Stickstoffverbindung, namentlich Salpeter, enthält, unterbleibt trotz der Impfung die Knöllchenbildung vollständig. Selbst bei einer Gabe von 5 mg Stickstoff in Form von KNO_3 in 1 Liter Nährlösung sah Hiltner Erbsen knöllchenfrei bleiben, bis der Salpeter aufgebraucht war. Sucht man nach einer Erklärung dieser auffallenden Wirkung einer Salpeterdüngung, welche auch durch die interessanten Beobachtungen von Wohltmann (1) bestätigt wird, so denkt man zunächst unwillkürlich daran, daß die Pflanze durch die Ernährung mit Salpeter, vorausgesetzt natürlich, daß sie auch an den übrigen Nährstoffen keinen Mangel leidet, so gekräftigt wird, daß sie sich der Parasiten erwehren kann, oder wie es auch schon ausgedrückt wurde, daß sie die Symbiose einzugehen nicht nötig hat. Hiltner konnte aber nachweisen, daß diese Salpeterwirkung weniger durch eine Stärkung der Widerstandskraft der damit gedüngten Pflanze im allgemeinen zu erklären sei, als durch eine direkte Beeinflussung der Bakterien durch den Salpeter. Näheres hierüber kann erst im nächsten Paragraphen bei eingehender Besprechung der Bakteroiden ausgeführt werden. Hier sei nur erwähnt, daß die schädigende Wirkung des Salpeters auf die Knöllchenbildung und, wie wir hier gleich hinzufügen wollen, auch auf die Wirkung etwa schon vorhandener Knöllchen eine lebhafte Nitrifikation in einem mit Leguminosen bebauten Boden der Stickstoffsammlung nicht günstig erscheinen läßt. Tatsächlich setzt auch die Tätigkeit der Knöllchen, wie Nobbe und Hiltner mit Sicherheit nachweisen konnten, erst ein, sobald der von den Pflanzen aufnehmbare Bodenstickstoff von den Pflanzen verbraucht (oder, wie neuere aber noch nicht veröffentlichte Versuche von Hiltner dartun werden, durch Organismentätigkeit zunächst in eine nicht aufnehmbare Form übergeführt ist).

Daß im übrigen die Leguminosen ihren Stickstoffbedarf auch vollständig aus dem Boden decken können, also nicht unbedingt der Knöllchen bedürfen, sei hier ausdrücklich betont. Wie aber namentlich Frank nachgewiesen hat, zeigen die durch Knöllchen mit Stickstoff ernährten Leguminosenpflanzen tieferes Grün durch Verstärkung des Chlorophyllapparates der Blätter, und überhaupt scheinen Höchsterträge nur durch Knöllchenwirkung zustande zu kommen, da die Leguminosen namentlich den Salpeter erheblich schlechter ausnützen können als viele andere Pflanzen. Da die Knöllchen den Pflanzen nur Stickstoff liefern, so müssen denselben die übrigen Nährstoffe, namentlich Phosphorsäure und Kali, in genügender Menge zur Verfügung stehen, wenn die Knöllchenwirkung voll zur Geltung gelangen soll. Das Bedürfnis nach diesen beiden Nährstoffen ist daher bei den Leguminosen besonders groß, worauf neuerdings auch besonders Wohltmann (1) hingewiesen hat. Ist einer von ihnen in ungenügender Menge im Boden enthalten und wird er auch nicht durch Düngung zugeführt, so kann der Besitz von Knöllchen, namentlich wenn sie durch an sich sehr virulente Bakterien erzeugt wurden, einen direkt schädlichen Einfluß auf die Pflanzen ausüben. Eine bedeutsame Rolle spielt auch der Kalk beim Zustandekommen der Knöllchenwirkung. Die alte Erfahrung der Landwirte, daß Gips eine ganz spezifische Wirkung, namentlich auf Klee ausübt, beruht

sicher auf einer Förderung des Stickstoffsammlungsvermögens, wenn auch bestimmte Beweise hierfür noch nicht vorliegen. So erzielte Bässler (1) bei einem Impfversuch mit Erbsen unter Anwendung von Nitragin (vgl. § 12) auf einem schwach humosen, lehmigen Sandboden durch die Impfung eine Mehrernte auf 1 a von 3,96 kg auf der nicht 5 mit Kalk gedüngten Parzelle, dagegen von 16,29 kg auf der gekalkten Fläche. Die Lupinen, namentlich die gelben und zum Teil auch Serradella, sind aber im Gegensatz zu den meisten übrigen Leguminosen gegen größere Kalkmengen empfindlich. Die Angabe von Salfeld (1), daß eine Aetzkalkdüngung auch bei Erbsen die Knöllchenbildung voll- 10 ständig verhindere, weil der Aetzkalk jedenfalls die Knöllchenbakterien abtöte, beruht auf einer falschen Deutung der Ergebnisse eines Feldversuches und ist später von Salfeld (2) selbst berichtigt worden.

§ 10. Wesen und Bedeutung der Bakteroidenbildung.

Die wichtige Frage, wodurch der Besitz von Wurzelknöllchen die Leguminosenpflanzen wohl befähige, den freien Stickstoff der Luft zum 15 Aufbau ihrer Organe zu verwerten, hat von den vielen Forschern, die sich schon mit ihr beschäftigten, eine recht verschiedene Beantwortung erhalten. Daß diese Fähigkeit den knöllchenbesitzenden Leguminosen wirklich zukomme, war aus Hellriegel's Versuchen eigentlich nur indirekt abzuleiten, da sein Nachweis nur darin bestand, daß der in- 20 folge des Knöllchenbesitzes von Leguminosenpflanzen in ihren Organen enthaltene Stickstoff keiner anderen Quelle entstammen könne. Erst Schlösing Sohn und Laurent (1) haben sie direkt durch einen Versuch erwiesen, bei dem sie Zwergerbsen in geschlossenem Raume kultivierten und aus ihm von Zeit zu Zeit Gas zur Analyse entnahmen. Frank, der 25 sich als einer der ersten mit der Frage beschäftigte, wodurch diese Stickstoffsammlung zustande komme, gelangte zunächst zu dem überraschenden Ergebnis, daß das Stickstoffsammlungsvermögen allen grünen Pflanzen eigen sei, und daß diese der Pflanze also schon innewohnende Fähigkeit bei den Leguminosen nur durch den „Reiz", den die Knöllchen- 30 bakterien auf das Plasma ausüben, verstärkt werde. Die eigentliche Bindung des Stickstoffs sollte nach ihm in den Blättern vor sich gehen. Obgleich andere Forscher, namentlich Wilfarth (1), U. Kreussler (1), P. Wagner (1), Aeby (1), Nobbe und Hiltner (6), Pfeiffer (1) u. a. in einwandfreier Weise dartun konnten, daß die Lehre Frank's, derzufolge 35 alle grünen Pflanzen Stickstoff mit Hilfe ihrer Blätter sammeln könnten, falsch sei, und obgleich P. Kossowitsch (1) bereits nachgewiesen hatte, daß knöllchenbesitzende Erbsen auch Stickstoff sammeln, wenn ihre oberirdischen Organe in einer Wasserstoffatmosphäre gezogen werden, schloß sich später J. Stoklasa (2) der Auffassung von Frank an, ohne aber natür- 40 lich unter diesen Umständen mit seiner Ansicht durchdringen zu können.

Daß die **Stickstoffbindung in den Wurzelknöllchen** selbst erfolge, konnten Nobbe und Hiltner schon durch den Nachweis wahrscheinlich machen, daß die Stickstoffsammlung an die Tätigkeit der Bakteroiden gebunden sei. Noch zwingender sprach dafür, die von denselben Forschern 45 experimentell erwiesene und bereits in § 9 erörterte Tatsache, daß die Knöllchen der Robinia und anderer Leguminosen bei Wasserkulturen fast unwirksam sind, solange sie sich innerhalb der Nährlösung befinden, dagegen eine normale Wirksamkeit entfalten, sobald man sie durch Abgießen eines Teiles der Flüssigkeit direkt mit der Luft in Berührung 50

bringt. Inzwischen hatte FRANK eine neuere Erklärung für die günstige Wirkung der Knöllchen gegeben: Darnach sollte die Symbiose zwischen Bakterien und Wirtspflanze dadurch für letztere vorteilhaft werden, daß sie schließlich die an Eiweiß besonders reichen Bakteroiden resorbiere. 5 Die Frage, woher der Eiweißreichtum der Bakteroiden stamme, ließ FRANK dabei allerdings gänzlich außer acht. Ueberdies berücksichtigte er nicht, daß gerade zu jener Zeit, zu welcher die Leguminosen am meisten Stickstoff sammeln, von einer Resorption der Bakteroiden kaum die Rede sein kann, und daß selbst dann, wenn eine solche schließlich 10 gegen Ende der Vegetation stattfände, die geringe Stickstoffmenge der Bakteroiden sämtlicher Knöllchen einer Pflanze bei weitem nicht hinreichen würde, eine Förderung hervorzurufen, wie sie beispielsweise NOBBE und HILTNER bei Erbsenpflanzen konstatieren konnten, die über 1 g Stickstoff der Luft entnommen hatten, dabei aber an ihren Wurzeln 15 nur Knöllchen von insgesamt 300 mg Gewicht besaßen.

Eine überaus eigenartige Idee entwickelte schließlich STOKLASA (3). Nach dieser sollen die Knöllchenbakterien ein Enzym erzeugen, das von der Pflanze in die oberirdischen Organe geführt wird und dort den eigentlichen Anreiz zur Stickstoffaufnahme gibt. Sobald es einmal ge- 20 bildet und in den Blättern verbreitet sei, hätten die Knöllchen weiter keine Bedeutung mehr, d. h. die Stickstoffsammlung ginge nun auch ohne sie weiter. Wie wenig diese letztere Angabe den tatsächlichen Verhältnissen entspricht, hat HILTNER nachgewiesen, der fand, daß die Pflanzen sofort nach Stickstoff zu hungern beginnen, sobald man ihre 25 Wurzelknöllchen entfernt.

Der Frage, ob vielleicht die Knöllchenbakterien für sich allein Stickstoff sammeln könnten, ist zuerst BEIJERINCK (3) nähergetreten, indem er mit Reinkulturen Versuche in Nährlösungen anstellte und dabei während zweimonatlicher Dauer eine Anreicherung an Stickstoff in der 30 Menge von 9—18 mg auf 1 Liter feststellte. BEIJERINCK selbst hielt mit diesem Befunde die Frage noch nicht für entschieden. Einen größeren Stickstoffgewinn erzielte MAZÉ (1) bei Versuchen mit Knöllchenbakterien, zu denen Bohnenextrakte mit 2—4 Proz. Traubenzucker verwendet wurden; unter diesen Bedingungen wurden 1—2 mg Stickstoff auf 1 g 35 Traubenzucker gewonnen. Doch auch diese Angabe ist mit einiger Vorsicht aufzunehmen, da MAZÉ davon spricht, daß die Kulturen einen starken Geruch nach faulem Käse zeigten, was auf eine Verunreinigung derselben schließen läßt. HILTNER und STÖRMER (1) erzielten bei der Kultur von Knöllchenbakterien verschiedener Herkunft in verschiedenen 40 Lösungen mit großem Kohlenstoffüberschuß keinen Stickstoffgewinn; sie vermuten aber, daß ein solcher eintreten werde, sobald man den Lösungen den Extrakt von Leguminosenpflanzen zusetzen wird.

Weisen somit die bisher vorliegenden Versuche in dieser Richtung noch eine bedauerliche Lücke auf, so dürfte es doch keinem Zweifel 45 mehr unterliegen, daß tatsächlich die **Stickstoffbindung innerhalb der Knöllchen** sich vollzieht. R. BOUQUET (1) vermutet, daß das von den Wurzeln aufgenommene und aus den Blättern wieder entweichende Wasser den darin aufgelösten elementaren Stickstoff zuführt und an die Zellen der Wurzeln, bzw. der Knöllchen abgibt. Daß der Vorgang sich 50 so vollziehe, konnte HILTNER durch den Nachweis sehr wahrscheinlich machen, daß die Stickstoffsammlung der Leguminosen tatsächlich in großer Abhängigkeit zur Verdunstungsgröße stehe, wie auch durch die fernere Beobachtung, daß von seiten der Wurzeln aus Luft mit großer

Kraft in das Innere der Knöllchen gepreßt wird. Immer mehr konzentrierte sich daher in den letzten Jahren das Interesse auf die in den Knöllchen sich abspielenden Vorgänge. Fermi (1) wies nach, daß in ihnen ein proteolytisches Enzym enthalten sei. Hiltner fand in tätigen Knöllchen in großer Menge einen aus löslichem Eiweiß bestehenden, 5 aleuronartigen Körper, der im Bakteroidengewebe entsteht und von den Pflanzen aufgenommen wird.

Im Verein mit dem schon erwähnten Nachweis von Nobbe und Hiltner, daß die Stickstoffsammlung erst beginnt, wenn die Bakteroiden innerhalb der Knöllchen ihre volle Ausbildung gewonnen haben, mußte 10 es also in hohem Grade als wahrscheinlich bezeichnet werden, daß innerhalb der Bakteroiden wichtige chemische Umsetzungen stattfänden, die mit der Stickstoffbindung in engem Zusammenhang stünden. Nicht nur hierdurch, sondern vor allem durch den von verschiedenen Forschern erbrachten Beweis, daß Bakteroiden auch außerhalb der Wirtspflanze 15 aus Knöllchenbakterien hervorgehen können, wendete man diesen eigentümlichen Gebilden erhöhte Beachtung zu.

Daß bereits Beijerinck Bakteroiden auf festen Nährböden in seinen Kulturen von Knöllchenbakterien auftreten sah, wurde bereits erwähnt. Auch Hiltner (3) beobachtete später die **Entstehung von Bakteroiden** 20 auf Nährgelatine, und Stutzer (1) wies nach, daß sie aus den Knöllchenbakterien von *Vicia Faba* regelmäßig in Lösungen entstehen, die gewisse organische Säuren enthalten. Hartleb (1) trat zwar der Angabe Stutzer's mit der Behauptung entgegen, dieser habe zu seinen Versuchen gar keine echten Knöllchenbakterien sondern eine von Hartleb aus Knöllchen 25 isolierte und von ihm als *Pseudorhizobium ramosum* bezeichnete Bakterienart verwendet. Doch konnten Hiltner und Störmer Stutzer's Befund bestätigen, während es ihnen andrerseits gelang, nachzuweisen, daß saure Phosphate im Gegensatz zu Hartleb's Angabe die Bakteroidenbildung nicht bewirken. Aus den umfassenden Versuchen von Hiltner und 30 Störmer geht hervor, daß Bakteroiden stets in Lösungen entstehen, die einen großen Ueberschuß an kohlenstoffreichem Nährmaterial, namentlich an Kohlenhydraten, enthalten. Außer für Traubenzucker konnten sie diese Fähigkeit erweisen für Raffinose, Maltose, Mannit, Galactose, Arabinose, Xylose, Stärke, Rohrzucker, Lactose und Lävulose, von 35 organischen Säuren für Bernsteinsäure, Aepfelsäure, Citronensäure und Weinsäure.

Von nicht kohlenstoffhaltigen Verbindungen, namentlich solchen, die von den Leguminosenpflanzen aus dem Boden aufgenommen werden können, begünstigt nur noch der Salpeter die Bakteroidenbildung. 40 Zwischen seiner Wirkung und jener kohlenstoffreicher Körper zeigt sich aber dabei ein auffallender Unterschied. Mit wenig Ausnahmen hatte man bis dahin das Wesentliche der Bakteroidenbildung in der Formveränderung, namentlich in der dabei häufig auftretenden Verzweigung der Knöllchenbakterien erblickt. Naumann (1) z. B., der eine ganze 45 Reihe der verschiedenartigsten Verbindungen ziemlich planlos auf ihr Vermögen prüfte, Bakteroidenbildung zu veranlassen, und dabei fand, daß Urin, Blätter-, Wurzel- und Samenextrakte von Pferdebohnen, Erdenauszug und Eisbeerenabkochungen in dieser Beziehung wirksam sind, achtete, ebenso wie vorher Stutzer und Hartleb, fast nur auf das Auf- 50 treten von Verzweigungen, während die bei der Umbildung der Bakterien in Bakteroiden vor sich gehenden **Aenderungen im plasmatischen Inhalt** völlig unberücksichtigt blieben. Nach Hiltner und Störmer sind

diese aber besonders wichtig und für die Erkenntnis der Prozesse, die zur Stickstoffsammlung führen, bedeutsam. Diese Aenderungen bestehen in dem Auftreten von Vakuolen und vor allem in der Differenzierung des Plasmas, indem sich der Inhalt der Bakteroiden einerseits in ein mit Karbolfuchsin stark tingierbares und mit Jodtinktur eine rotbraune Farbe annehmendes, lichtbrechendes Plasma und andrerseits in einen durch Karbolfuchsin nur schwach oder gar nicht färbbaren, durch Jodtinktur rein gelbwerdenden Bestandteil sondert. Diese Differenzierung erfolgt nur in reinen Lösungen von Kohlenhydraten oder organischen Säuren, oder bei gleichzeitiger Gegenwart stickstoffhaltiger Körper, falls diese durch die sich vermehrenden Bakterien bzw. Bakteroiden aufgebraucht sind und die im Ueberschuß vorhandenen Kohlenhydrate allein wirken können. In reinen Salpeterlösungen dagegen verändern die Bakterien zwar stark ihre Form und es treten bei gewissen Knöllchenbakterien, namentlich aus der Spezies *Rhizobium radicicola* auch Verzweigungen auf, aber die Differenzierung des Plasmas unterbleibt. Setzt man zu einer Lösung von Traubenzucker, in welcher die Differenzierung des Plasmas besonders deutlich hervortritt, geringe Mengen Salpeter, so verschwindet der mit Jodtinktur sich rotbraun färbende Plasmateil, das Plasma nimmt wieder einen einheitlichen Charakter an. Da in den Knöllchen große Mengen von Stärke von der Pflanze abgelagert werden, die von den Bakteroiden nach ihrer Verzuckerung als Nahrung verwendet werden, so erfolgt die Differenzierung auch in den Bakteroiden innerhalb der Knöllchen, sofern die Pflanzen nicht aus dem Boden Salpeter aufnehmen.

Das durch Jodtinktur meist rotbraun sich färbende Plasma hat namentlich bei den Knöllchenbakterien der Spezies *B. Beijerinckii* die Neigung, aus den Bakteroiden auszusprossen (vergl. *Fig. 9*); bei den Bakterien der Spezies *B. radicicola* kann es dagegen das ganze Bakteroid ausfüllen. An Bakteroiden aus Knöllchen von Sojapflanzen, die sich noch im „Hungerstadium" befanden, waren diese Aussprossungen ebenfalls nachweisbar; sie waren aber von dem Tage an nicht mehr zu sehen, an welchem die Blätter zu ergrünen begannen, an welchem also die Stickstoffsammlung begonnen hatte. Aus diesen und verschiedenen anderen Beobachtungen schließen Hiltner und Störmer (2), daß der mit Jodtinktur rotbraun sich färbende Bestandteil des Plasmas von den Pflanzen resorbiert werde und daß damit die Stickstoffsammlung in Zusammenhang stehe. Nicht die Bakteroiden selbst werden also in normal tätigen Knöllchen von den Pflanzen resorbiert sondern nur gewisse, durch einseitige Ernährung mit Kohlenhydraten in großer Menge entstehende Plasmateile derselben, die entweder schon selbst das Produkt einer Stickstoffsammlung darstellen, oder die erst bei ihrer Vereinigung mit von der Pflanze herrührenden Stoffen Stickstoff binden. Ganz abgesehen davon, daß diese Deutung auf tatsächlichen Beobachtungen beruht, findet sie auch noch eine ganz wesentliche Stütze durch die auffallende, schon von Hellriegel und Wilfarth festgestellte, später nament-



Fig. 9. Bakteroiden von *Soja hispida* mit Aussprossungen.

lich von Nobbe und Hiltner bestätigte Tatsache, daß Leguminosenpflanzen, nachdem sie zunächst von dem ihnen aus den Samen zur Verfügung stehenden Stickstoffkapital oder von Bodenstickstoff sich ernährt haben, nach Versiegen dieser Quelle nicht sofort mit der Stickstoffsammlung beginnen, sondern erst deutlich und mehr oder minder lange Zeit hindurch die Anzeichen von Stickstoffhunger darbieten, ein „Hungerstadium“ durchzumachen haben. Solange nämlich die Pflanzen von Samen- oder Bodenstickstoff sich ernähren, unterbleibt die Differenzierung des Plasmas in ihren Bakteroiden; sind die Bedingungen dazu endlich gegeben, so muß erst eine gewisse Zeit verstreichen, bis sie so weit fortgeschritten ist, daß die Pflanze mit der Aufnahme der dabei in den Bakteroiden entstehenden Stoffe beginnen kann.

Tritt im Stoffumsatz solcher Pflanzen, die bereits aus dem Besitz von Knöllchen Gewinn ziehen, eine **Störung** ein, so können sich in ihren Knöllchen sehr leicht die von den Bakteroiden gebildeten Stoffe in größerer Menge anhäufen. Frank (6) hat bei der Erbse solche Knöllchen aufgefunden und sie in der irrigen, von ihm später selbst berichtigten Meinung, daß der Hauptinhalt derselben nicht wie bei normalen Knöllchen aus Eiweiß, sondern aus Amylodextrin bestehe, von den „Eiweißknöllchen“ als „Amylodextrinknöllchen“ unterschieden. Da er zugleich fand, daß die letztere Art von Knöllchen meist auch in der Gestalt und Größe von den normalen Knöllchen abweicht, so sprach er von einem „Dimorphismus“ der Erbsenknöllchen. Die weitere Beobachtung, daß die abnormen Knöllchen meist von Fliegenmaden heimgesucht werden, veranlaßte ihn zu der recht phantastischen Annahme, jene Knöllchen würden von der Pflanze zu dem Zweck gebildet, derartige schädliche Tiere von den nützlichen Eiweißknöllchen abzuhalten. H. Möller (1), der Frank mit großer Entschiedenheit entgegentrat, indem er den Dimorphismus leugnete und die Form und Stoffveränderung der Bakteroiden als eine fettige Degeneration bezeichnete, die im Laufe der Entwicklung in jedem Knöllchen auftrete, behielt in dem längere Zeit geführten Streit zunächst anscheinend Recht; wie aber Hiltner und Störmer (1) später nachweisen konnten, war seine Auffassung doch ebenfalls irrig. Die Entstehung der eigentümlichen abnormen Knöllchen, die Frank beobachtete und die tatsächlich, wenn auch weniger in ihrer äußeren Form als bezüglich ihres Inhaltes, sehr abweichend sich verhalten, wurde von Hiltner und Störmer auf eine Störung der Zu- und Ableitungswege durch Befall der Wurzeln zurückgeführt, die zur Folge hat, daß sich der mit Jod rotbraun färbende Inhaltsbestandteil der Bakteroiden, die „chromatische Substanz“ Frank's, in großer Menge in dem Bakteroidengewebe anhäuft. Während der Inhalt normaler Knöllchen, mögen sie noch in voller Tätigkeit oder bereits in Zersetzung begriffen sein, beim Durchschneiden ausfließt und daher leicht in Wasser verteilbar ist, kleben die Bakteroiden der in Frage stehenden Knöllchen so fest zusammen, daß es schwer hält, die einzelnen Elemente der das ganze Bakteroidengewebe erfüllenden Masse voneinander zu trennen. Gesundet die Wurzel wieder, so verschwindet auch die chromatische Substanz, und der Knöllcheninhalt nimmt wieder normale Eigenschaften an. Damit ist der Beweis geliefert, daß diese Substanz von den Pflanzen verarbeitet werden kann. Ihr Auftreten ist also keineswegs, wie Möller annahm, das Zeichen einer schließlich in jedem Knöllchen eintretenden fettigen Entartung der Bakteroiden, sondern sie spielt jedenfalls bei der Stickstoffassimilation eine außerordentlich wichtige Rolle. Hiltner und Störmer sahen sie auch in Sojaknöllchen auftreten,

und zwar als Aussprossungen aus den Bakteroiden, sobald man Pflanzen, die durch ihre Knöllchen lebhaft Stickstoff sammelten, längere Zeit verdunkelte. Bezüglich des chemischen Charakters der Aussprossungen konnten sie vorläufig nachweisen, daß dieselben aus einer plasmatischen Grundsubstanz bestehen, die sicher zwei verschiedene Stoffe bildet: Der eine davon, der sich mit Jod rotbraun färbt, besteht jedenfalls aus Glycogen, von dem anderen, der sich mit Chloroform ausschütteln läßt und nach dem Verdunsten des Chloroforms als guttaperchaähnliches Häutchen zurückbleibt, konnte bisher nur ermittelt werden, daß er vollkommen stickstoffrei ist. Hiltner und Störmer haben sich vorbehalten, diesen eigentümlichen Prozeß weiter zu verfolgen, und hoffen, dabei den Vorgang der Stickstoffassimilation auch nach der chemischen Seite allmählich klären zu können.

Uebrigens soll nicht unerwähnt bleiben, das Prażmowski (1) zuerst über das Auftreten einer mit Jodtinktur rotbraun sich färbenden Substanz in den Knöllchen berichtete; er betrachtete sie als eine eigentümliche Form von Eiweißstoffen, und die Umwandlung des Bakterienkörpers in Eiweißsubstanzen stellt nach ihm eine jener Veränderungen dar, die die Bakterien unter dem Einfluß der Pflanzen erleiden.

Die morphologische Bedeutung der Bakteroiden und ihrer Aussprossungen interessiert an dieser Stelle weniger. Daß die Bakteroiden nicht Involutionsformen darstellen, zeigt schon ihre Fähigkeit sich lebhaft zu vermehren und sich wieder in normale Bakterien rückbilden zu können. Ob es berechtigt ist, sie wegen ihrer namentlich bei *Bacterium radicicola* vorhandenen Fähigkeit, Verzweigungen bilden zu können, den Bakterienstäbchen gegenüber als höhere Entwicklungsformen zu bezeichnen, wie es Stutzer getan hat, ob sie sporangienartiger Natur sind, wie Hiltner anzunehmen geneigt ist, müssen weitere Untersuchungen entscheiden. Jedenfalls hat bei Hartleb, der von Zoosporenbildung und Kopulationsvorgängen spricht, die zur Bildung von Zygoten führen, die Phantasie der tatsächlichen Beobachtung etwas nachgeholfen.

§ 11. Die Bodenimpfung für Leguminosen.

Die nächste Folge der Hellriegel'schen Entdeckung in praktischer Beziehung war, daß man noch mehr, als es bis dahin geschehen war, die verschiedenen Leguminosenarten anbaute, um sich ihr Stickstoffsammlungsvermögen zunutze zu machen. Insbesondere gewann die **Gründüngung** unter den Landwirten immer mehr Freunde, zunächst namentlich bei solchen, die leichten Boden bewirtschafteten, vereinzelt auch bei Besitzern von schweren Böden. In den letzten Jahren wurden auch erfolgreiche Versuche gemacht, die Gründüngung bei der Obstbaumzucht und im Walde zu verwerten. Das Wesen der Gründüngung besteht darin, daß man geeignete Leguminosenarten entweder in die Brache einsät, um sie, nachdem sie sich üppig entwickelt haben, unterzupflügen, oder indem man Zwischenfrucht- oder Stoppelfruchtbau treibt. Beim Zwischenfruchtbau erfolgt die Einsaat der Leguminosen im Frühjahr in das Getreide, wobei sie sich meist erst nach der Aberntung des Getreides stark entwickeln. Beim Stoppelfruchtbau bringt man schnellwüchsige Leguminosen noch nach der Aberntung des Getreides auf das Feld. In beiden Fällen wird die grüne Masse entweder noch im Herbst oder auch erst im Frühjahr untergepflügt. Durch Düngung mit Kali und Phosphor-

säure sucht man das Stickstoffsammlungsvermögen der Pflanzen möglichst zu steigern. Die untergebrachten grünen Massen der Leguminosen bereichern den Boden nicht nur erheblich an Stickstoff, der der Nachfrucht zugute kommt, sondern auch an Humus, so daß auch der physikalische Zustand der Böden eine wertvolle Verbesserung erfährt. In der Regel pflegt man nach Gründüngung Hackfrüchte, Kartoffeln oder Rüben, zu bauen; neuerdings wird aber immer mehr auch mit Erfolg versucht, Getreide nach Gründüngung auf das Feld zu bringen. Zur Zwischenfruchtsaat werden vielfach auch solche Leguminosenarten verwendet, die, wie die Kleearten, nicht als Gründünger, sondern als Futter Verwendung finden.

Es ist hier nicht der Ort, die Vor- und Nachteile der verschiedenen Methoden, das Stickstoffsammlungsvermögen der Leguminosen möglichst auszunützen, näher zu beschreiben; vielfach wird über die hier einschlägigen Fragen in den landwirtschaftlichen Zeitschriften noch ein heftiger Kampf zwischen den Landwirten geführt, der, unterstützt durch wissenschaftliche Forschungen, immer mehr zu einer Klärung darüber führt, auf welchen Bodenarten, unter welchen klimatischen Bedingungen und mit welchen Leguminosenarten die Gründüngung und überhaupt der Anbau von Leguminosen die bestmöglichen Vorteile bietet. Welch ungeheure Bedeutung der Gründüngung schon heutzutage im Landwirtschaftsbetriebe zukommt, dürfte daraus hervorgehen, daß im Jahre 1900 allein in Preußen 365442 ha mit Lupinen und 209141 ha mit Serradella, den beiden wichtigsten Gründüngungspflanzen, angebaut wurden.

Bei den vielfachen Versuchen, den Leguminosenbau und insbesondere die Gründüngung auch auf Bodenarten und in Gegenden einzuführen, wo es bis dahin noch nicht geschehen, stellte sich sehr bald heraus, daß die gewählten Pflanzenarten trotz richtiger Düngung nicht überall gediehen. Salfeld, der Vorstand der Ems-Abteilung der Moor-Kulturstation Bremen, der wiederholt vergeblich versucht hatte, auf den Emsmooren Erbsen zur normalen Entwicklung zu bringen, fand schließlich, daß die Erbsen nicht in erhoffter Weise gediehen, weil sie wegen Fehlens der Knöllchenbakterien im Boden keine Knöllchen ausbildeten, und er kam dadurch auf den glücklichen Gedanken, die fehlenden Bakterien durch eine sog. **Bodenimpfung** einzuführen. Von einem Felde, auf dem im Vorjahre Erbsen gut gediehen waren, entnahm er aus der Ackerkrume Erde und überführte sie auf die mit Erbsen zu bestellende Fläche. In der Tat bildeten nun die Erbsenpflanzen Knöllchen an ihren Wurzeln und brachten es infolgedessen zu einer normalen Entwicklung. Salfeld und nach ihm zahlreiche Landwirte haben in der Folgezeit wiederholt derartige Bodenimpfungen nicht nur zu Erbsen, sondern auch zu den verschiedensten anderen Leguminosenarten mit Erfolg ausgeführt, und vielfach hat sich das Verfahren, namentlich auf den norddeutschen Mooren, als wirtschaftliche Maßregel schon fest eingebürgert.

Nobbe und Hiltner haben im Jahre 1896 an Stelle dieses Verfahrens mit „Naturimpferde", die **Anwendung von Reinkulturen** von Knöllchenbakterien empfohlen, nachdem sie jahrelang Impfversuche mit solchen Reinkulturen mit Erfolg durchgeführt hatten. Auf ihre Veranlassung wurden für jede landwirtschaftlich wichtige Hülsenfrucht- und Kleeart die entsprechenden Knöllchenbakterien in Reinkultur von den Höchster Farbwerken unter dem Namen **Nitragin** in den Handel gebracht und in den folgenden Jahren von zahlreichen Landwirten und Forschern erprobt. Die Erwartungen, die man vielfach an das Nitragin knüpfte,

haben sich aber nur in verhältnismäßig wenig Fällen erfüllt, so daß die Höchster Farbwerke im Jahre 1900 den weiteren Vertrieb desselben einstellten.

Die Tatsache, daß aber doch in einer Reihe von Fällen mit dem Nitragin ganz überraschende Erfolge erzielt wurden, gab Hiltner Veranlassung, die Forschungen, wie sich die Reinkulturen und die Impfmethoden so verbessern ließen, daß die Impfung praktische Bedeutung erlangen könne, fortzusetzen, und im Jahre 1903 konnte er im Verein mit K. Störmer (1) über eine ziemlich große Zahl sehr gut gelungener Versuche berichten, die in jeder Richtung die von ihm (2) bereits im Jahre 1900 in einer größeren Abhandlung ausgesprochenen Anschauungen über den Weg, den die Forschung zu beschreiten hatte, bestätigt.

Vor allem gelang es, die Wirksamkeit der zur Impfung verwendeten Bakterien bedeutend zu steigern durch Beachtung ihrer eigentümlichen Anpassungs- und Virulenzverhältnisse, sowie durch genauere Feststellung der Ansprüche, welche die verschiedenen Knöllchenbakterien an die künstlichen Nährböden stellen. Man gewann die Bakterien nicht mehr wie früher aus beliebigen Knöllchen, sondern aus Knöllchen von Pflanzen, die bereits mehrmals hintereinander in demselben Boden gewachsen waren, so daß also die Bakterien schon mehrmals die gleiche Pflanzenart passiert hatten, und benützte schließlich für jede Art und Anpassungsform der Knöllchenbakterien besondere Nährböden, über die Hiltner und Störmer eingehende Angaben machten. Nach ihnen kommt für *Rhizobium Beijerinckii* hauptsächlich ein **Nährboden** in Betracht, der folgendermaßen gewonnen wird: 1,5 Proz. Agar, 2 Promille Wurzelextrakt, 1 Proz. Traubenzucker werden im Autoklaven 20 Minuten bis 120 ° C erhitzt. Die Zeit genügt, um eine vollständige Lösung des Agars zu bewirken. Zu dieser Lösung setzt man dann auf 0,5 l Wasser eine Messerspitze voll kohlensauren Kalk, erhitzt nochmals 10 Minuten lang auf 120° und filtriert ab. Für *Rhizobium radicicola* hat sich im allgemeinen der von Beijerinck angegebene Nährboden bewährt, nur ist es vorteilhaft, an Stelle von Blätterdekokten Wurzelextrakte zu verwenden und zwar nicht in willkürlicher Menge, sondern unter Zugrundelegung der Extraktbestimmung durch Abdampfen und Trocknen bei 120 ° C in 0,2 prozentiger Lösung und unter Zusatz von 1 Proz. Traubenzucker und 0,1—0,2 Proz. Asparagin. In der Folgezeit hat sich übrigens immer mehr herausgestellt, daß die einzelnen Anpassungsformen von Knöllchenbakterien, die zu jeder der beiden Arten gehören, noch ganz besondere Ansprüche an die Nährböden stellen, die erfüllt werden müssen, wenn wirklich gut wachsende Kulturen gewonnen werden sollen.

Auch das eigentliche **Impfverfahren** fand durch Hiltner und Störmer eine wesentliche Verbesserung. Für das frühere Nitragin war vorgeschlagen worden, die auf Gelatine gezüchteten Bakterien in Wasser zu verteilen und mit diesem Wasser entweder Erde von dem zu impfenden Felde oder die Samen kurz vor der Aussaat zu infizieren. Im ersteren Falle war die Erde auf dem Felde gleichmäßig auszustreuen und sofort unterzueggen, und bei der Samenimpfung mußte dem feuchten Saatgute etwas trockene Erde oder Sand zugesetzt werden, um das Aneinanderkleben der Samen zu verhindern. Durch eingehende Feldversuche, zu denen namentlich die ohne Impfung knöllchenfrei bleibende Sojabohne benützt wurde, konnten Hiltner und Störmer aber nachweisen, daß die Erdimpfung mit Reinkulturen nur auf Moorböden oder stark humosen Böden Erfolge liefern kann, während in den meisten Acker-

böden die durch Impfung eingeführten Bakterien sehr rasch zugrunde gehen. Bei der Samenimpfung aber wird die Absicht, Knöllchenbildung an der Wurzel zu veranlassen, meist dadurch vereitelt, daß gewisse Stoffe, die bei der Quellung der Samen aus deren Schalen austreten, die auf ihre Oberfläche gebrachten Bakterien abtöten oder mindestens so stark beeinflussen, daß sie nicht mehr Knöllchen bilden. Dieser schädlichen Wirkung der Samenausscheidungsstoffe läßt sich begegnen, wenn man die Impfung der Samen erst vornimmt, nachdem dieselben vorher in feuchtem Sand vorgequellt oder vorgekeimt worden sind. So bildeten sich bei einem Feldversuch mit *Soja hispida* an den Wurzeln je einer Pflanze:

Ungeimpft 0 Knöllchen
Samen direkt geimpft 6 „
Samen vorgekeimt und kurz vor der Aussaat geimpft 22,5 „

Bei insgesamt 120 Feldversuchen mit den verschiedensten Leguminosenarten, die hauptsächlich nach diesem Verfahren im Jahre 1902 in allen Teilen Deutschlands zur Durchführung gelangten, wurden in 60 Proz. aller Fälle günstige, zum Teil hervorragende Ergebnisse erzielt. Da aber nicht zu verkennen ist, daß das Vorquellen oder gar Vorkeimen der Samen recht umständlich und zeitraubend, unter Umständen auch kaum durchführbar ist, so bemühten sich Hiltner und Störmer (1) das Impfverfahren noch weiter zu vervollkommnen und zu vereinfachen. Einen Anhalt hierfür bot die von ihnen gemachte Beobachtung, daß die schädliche Wirkung der Samenausscheidungsstoffe unterbleibt, sobald man die Bakterien, die man auf die Oberfläche der Samen bringt, nicht in reinem, sondern in solchem Wasser verteilt, dem man vorher etwa je 1—2 Proz. Traubenzucker und Pepton zugesetzt hat. An Stelle von Wasser ist noch zweckmäßiger Milch zu verwenden. Nachdem bereits im Jahre 1902 ein auf dem Maibuscher Moor bei Bremen nach diesem Verfahren ausgeführter Versuch mit gelben und blauen Lupinen sehr günstige Ergebnisse geliefert hatte, gelangte diese Methode bei ungefähr 300 im Jahre 1903 in ganz Deutschland unternommenen Versuchen zur Anwendung und es steigerte sich dadurch der Prozentsatz günstiger Ergebnisse auf 70. Speziell in Bayern, wo 98 Feldversuche zum Teil auf über 1 ha großen Flächen zur Durchführung gelangten, wurden in 83 Proz. aller Versuche durch die Impfung Mehrerträge, in vielen Fällen von überraschender Höhe erzielt. So erreichte, um nur einige Beispiele anzuführen, geimpfte Serradella bei einem Versuche auf Granitverwitterungsboden bei Weiden in der Oberpfalz 1½ m Höhe und ergab auf 1 a 400 kg grüne Masse, während die ungeimpften Pflanzen nur 40 cm hoch wurden, stark verunkrauteten und nur 5 kg grüne Masse lieferten. Gelbe und blaue Lupinen brachten durch die Impfung Mehrerträge von 67—2411 Proz. (Vergl. hierzu *Fig. 10.*) Bei Leguminosen, die (wie Erbsen, Bohnen, Wicken, Kleearten u. dgl.) schon seit sehr langer Zeit in Süddeutschland gebaut werden, konnten naturgemäß durch die Impfung solche Steigerungen des Ertrages nicht mehr erzielt werden, da ja auch die ungeimpft bleibenden Pflanzen Knöllchen bilden und infolgedessen gut gedeihen. Immerhin ließ sich in den meisten Fällen auch bei solchen Hülsenfrüchtlern noch eine beträchtliche Erhöhung des Ertrages erreichen, was am schlagendsten beweist, daß die Impfung auch da, wo der Boden bereits knöllchenbildende Bakterien enthält, noch von wirtschaftlicher Bedeutung ist, sobald man Bakterien mit künstlich gesteigerter Wirksamkeit einführt.

Durch diese Versuchsergebnisse, über welche Hiltner (6) in einer

besonderen Broschüre berichtete, dürften die verschiedenen Einwände, die gegen die Anwendung der Bodenimpfung im allgemeinen von verschiedenen Forschern geltend gemacht wurden, ein für allemal widerlegt sein. Die Mißerfolge mit dem früheren Nitragin haben nämlich vielfach

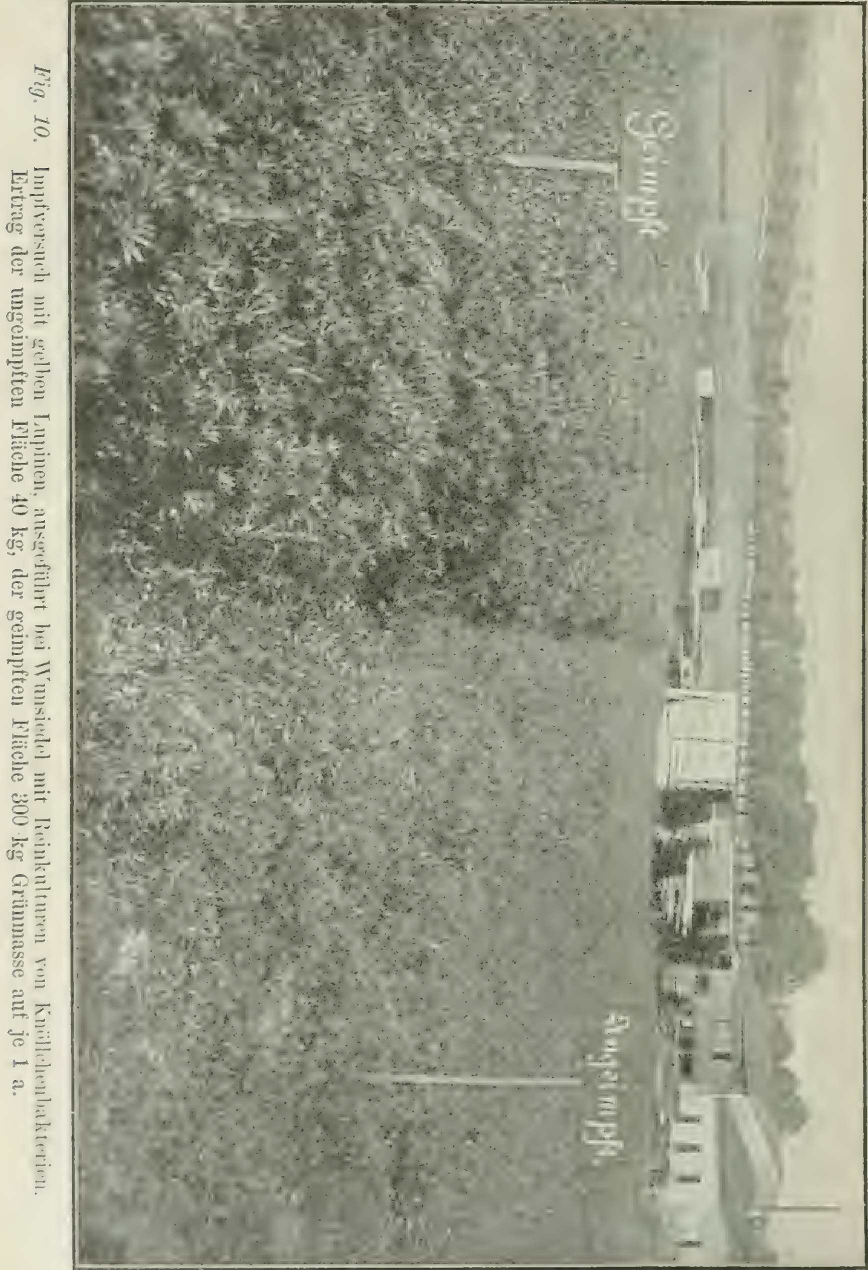


Fig. 10. Impfversuch mit gelben Lupinen, ausgeführt bei Wunsiedel mit Reinkulturen von Knöllchenbakterien. Ertrag der ungeimpften Fläche 40 kg, der geimpften Fläche 300 kg Grünmasse auf je 1 a.

Veranlassung zu dem Urteil gegeben, daß die Bodenimpfung, gleichgültig ob zu derselben Naturimpferde oder Reinkulturen verwendet würden, nur in seltenen Fällen eine Wirkung äußern könne. Namentlich MAZÉ suchte nachzuweisen, daß alle Böden, die durch ihre chemische und physikalische Beschaffenheit den Knöllchenbakterien die Möglichkeit zur 5 Ansiedlung und Entwicklung bieten, diese Bakterien bereits in großer Menge enthielten, so daß für sie die Bodenimpfung bedeutungslos sei; gewähre aber ein Boden diese Möglichkeit nicht, so könnte auch durch eine Impfung nichts erreicht werden. Wohl selten ist eine rein theoretische Anschauung durch die Tatsachen gründlicher widerlegt worden als in 10 diesem Falle.

Viele Versuche sind auch zur Entscheidung der Frage ausgeführt worden, ob **Naturimpferde oder Reinkulturen** wirksamer seien. Solange zu diesen Versuchen das frühere Nitragin zum Vergleich herangezogen wurde, fielen dieselben meist zu gunsten der Naturimpferde 15 aus. Aber schon im Jahre 1901 übertraf das Nitragin die Naturimpferde bei Versuchen auf dem Maibuscher Moor bei Bremen, die auf Veranlassung von HILTNER von der Bremer Moor-Versuchsstation ausgeführt wurden, bei gelben Lupinen, Serradella, Inkarnatklee und Sojabohnen bedeutend, während bei blauen Lupinen Reinkulturen wie Naturimpferde 20 gleich gut wirkten, und spätere Versuche haben zur Genüge dargetan, daß die Naturimpferde zum mindesten in ihrer Wirkung dem Nitragin nicht überlegen ist. Bedenkt man nun, daß von der Naturimpferde recht erhebliche Mengen (nach SALFELD durchschnittlich 2500 kg auf 1 ha) verwendet werden müssen, daß die Beschaffung so großer Mengen 25 vielfach schwierig und kostspielig ist, und daß ferner nach wiederholten Beobachtungen durch Naturimpferde eine sehr starke Verunkrautung der geimpften Felder eintreten kann, so muß man zu dem Schluß kommen, daß die mit Leichtigkeit auf große Entfernungen, ja selbst in andere Weltteile zu versendenden Reinkulturen entschieden den Vorzug verdienen. 30

Zur Zeit wird Nitragin für alle land- und forstwirtschaftlich wichtigen Leguminosenarten nur von der K. Agrikulturbotanischen Anstalt in München abgegeben und zwar in einfachen Reagensröhrchen, deren Inhalt zur Impfung einer Fläche von 25 a ausreichend ist. Die Kulturen behalten 6—8 Wochen ihre Wirksamkeit, wenn sie vor direktem 35 Sonnenlicht geschützt werden; gegen zerstreutes Licht sind sie dagegen nicht empfindlich.

In den letzten Jahren hat es nicht an Versuchen gefehlt, noch **andere Impfverfahren** in die Praxis einzuführen. So machte HARTLEB (2) für eine Impfmethode Propaganda, die im wesentlichen darin bestand, 40 daß die in Wasser vorgequellten Samen nicht mit Bakterien von festen Nährböden, sondern mit Bakteroiden, die sich in gewissen flüssigen Nährmedien bilden, infiziert werden. HILTNER hat jedoch auf die Gefahr hingewiesen, die durch das Vorquellen von Leguminosensamen in Wasser dem Auflaufen drohen, und er konnte auch die theoretischen Voraus- 45 setzungen HARTLEB's, nach welchen Bakteroiden besser in die Wurzeln eindringen sollten, als unzutreffend erweisen. Wie es übrigens scheint, ist das HARTLEB'sche Verfahren nie in der Praxis erprobt worden. REMY (1), der bei einem Topfversuche feststellte, daß Pflanzen von blauen Lupinen, die mit zerriebener Knöllchenmasse geimpft worden waren, in der Ernte- 50 masse mehr als doppelt soviel Stickstoff enthielten als solche, zu deren Impfung von ihm selbst gewonnene Reinkulturen zur Verwendung gelangt waren, schloß daraus, die Reinkulturen verlören auf den künst-

lichen Nährböden sehr an Wirksamkeit, und er bemühte sich daher, ein Impfverfahren zu finden, das die unmittelbare Uebertragung der Knöllchenbakterien ermöglichen sollte. HILTNER (4) konnte ihm aber entgegnen, daß die benutzte Reinkultur durchaus minderwertig war, und wie sehr er damit Recht hatte, geht aus einer neueren Veröffentlichung von SÜCHTING (1), dem Assistenten REMY's, hervor, der unbeabsichtigt zugesteht, daß zu REMY's Versuchen „avirulente" Lupinenbakterien verwendet wurden, die überhaupt nicht die Fähigkeit besaßen, Knöllchen zu bilden, und zwar nicht, weil sie durch die künstliche Kultur avirulent geworden waren, sondern weil sie überhaupt nicht aus Knöllchenbakterien bestanden. Im übrigen tun verschiedene Versuche, über die SÜCHTING berichtet, zur Genüge dar, daß Knöllcheninfuse durchaus nicht wirksamer sind als Reinkulturen von echten, völlig angepaßten Knöllchenbakterien.

§ 12. Vorkommen und Bedeutung der Wurzelknöllchen bei verschiedenen Nichtleguminosen.

Nachdem die so überaus wichtige Rolle, welche die Wurzelknöllchen bei der Ernährung der Leguminosen spielen, erkannt war, erinnerte man sich daran, daß solche Wurzelanschwellungen auch bei vereinzelten Nichtleguminosen vorkommen, und verschiedene Forscher begannen sich eifriger mit der Frage nach der physiologischen Bedeutung dieser Knöllchen und der Natur ihrer Erreger zu befassen. Längst bekannt waren knöllchenartige Wurzelanschwellungen bei allen Alnus-Arten und bei den Elaeagnaceen. BRUNCHORST (2) fand sie bei *Myrica Gale.* Schon BEIJERINCK (1) wies darauf hin, daß er Wurzelknöllchen auch bei *Melampyrum pratense* und *Rhinanthus major* beobachtet habe, und HILTNER (2) konnte solche bei verschiedenen Scrophulariaceen und Labiaten nachweisen.

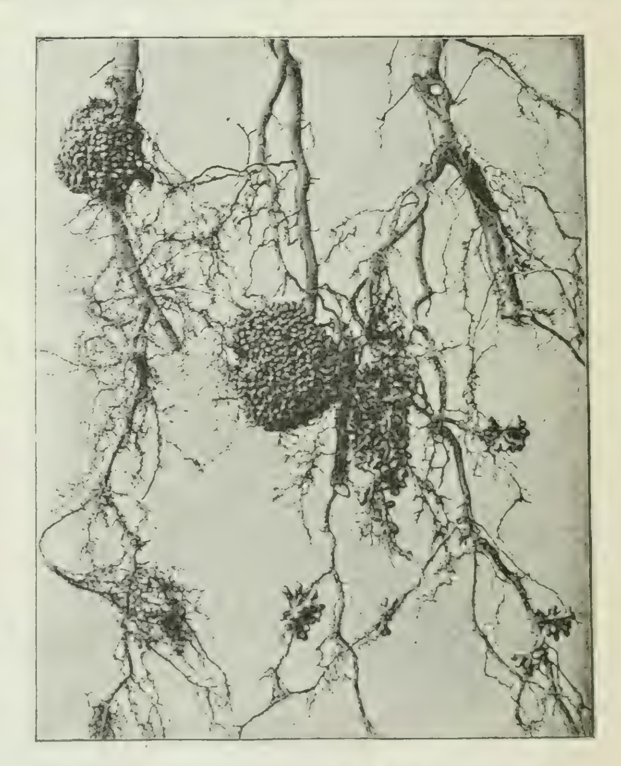


Fig. 11. Wurzelknöllchen von *Alnus glutinosa.* Nach v. TUBEUF.

Die Knöllchen der **Erlen**-Arten sind mehrjährig und bilden, wobei sie schließlich verholzen, oft Konglomerate von der Größe kleiner Aepfel. (Vergl. *Fig. 11.*) Sie wurden 1866 von Wo-

RONIN (1) genauer beschrieben, der das innere Zellgewebe derselben von farblosen, kugeligen, dicht beisammen liegenden Bläschen erfüllt fand, welche die terminalen oder interkalaren Anschwellungen dünner Fäden bildeten. Er bezeichnete den Pilz, um den es sich hier offenbar handelte, dessen verwandtschaftliche Beziehungen zu anderen Pilzgattungen aber nicht festgestellt werden konnten, als *Schinzia Alni*. In der Folgezeit haben sich mit dem interessanten Organismus besonders H. MÖLLER, BRUNCHORST und A. B. FRANK beschäftigt. MÖLLER (1 u. 2) hielt ihn zuerst für eine *Plasmodiophora*-Art, also für einen Schleimpilz, bestätigte aber später die Angaben von BRUNCHORST, welcher seinerseits den Befund von WORONIN als richtig erkannte und wesentlich erweiterte. Insbesondere gelang es BRUNCHORST (2), nachzuweisen, daß die bereits von WORONIN beschriebenen bläschenartigen Gebilde Sporangien des Pilzes darstellen, indem sich ihr Inhalt in einer bestimmten Entwicklungsperiode durch allmählich entstehende sich rechtwinklig schneidende Wände in eine große Zahl kleiner, eckiger Gebilde teilt, die sich abrunden und Sporen darstellen. Das Schicksal dieser Sporen hat MÖLLER weiter verfolgt. Er stellte fest, daß die Sporangienwand in der Regel am oberen Ende zerreißt und die Sporen austreten läßt. An besonders klarem und gut gefärbtem Material sah MÖLLER, daß die Sporen gekeimt und einen kleinen Keimschlauch entwickelt hatten. Während BRUNCHORST die feinen Mycelfäden des Pilzes deutlich septiert fand, konnte MÖLLER niemals Scheidewände beobachten und er bezeichnete deshalb den Pilz als einen einzelligen Hyphomyceten.

Ueber die systematische Stellung dieses Organismus können auch MÖLLER und BRUNCHORST nichts sicheres angeben. Ihnen zufolge steht er zusammen mit einigen ähnlichen Arten im System der Pilze ganz isoliert; denn ihn wegen seiner Sporangien zu den Mucoraceen zu stellen, wie dies SACCARDO in seinem berühmten Pilzwerk getan, erscheint aus verschiedenen Gründen doch wohl nicht angängig. Da man früher unter dem Namen *Schinzia* bestimmte Mycelien ohne Frucht- oder Gonidien-Bildung zusammenzufassen pflegte, so hielt es BRUNCHORST wegen der hier vorhandenen Sporangien für angezeigt, den Erlenpilz von dieser Sammelgattung zu trennen und ihn als *Frankia subtilis* zu bezeichnen.

FRANK (3), dem zu Ehren demnach gegenwärtig der Knöllchenbewohner der Erlen benannt wird, vermochte die Anschauungen von BRUNCHORST und MÖLLER über die Sporangiennatur der bereits mehrfach genannten Anschwellungen des Pilzes nicht zu teilen. Nachdem er ihnen längere Zeit hindurch überhaupt jegliche Pilznatur abgesprochen und sie ebenso wie die Bakteroiden der Leguminosenknöllchen als von der Pflanze selbst gebildete „Protoplasmamassen schwammartiger Struktur“ bezeichnet, schließlich aber nach der Veröffentlichung MÖLLER's durch erneute Untersuchung seinen Irrtum erkannt hatte, erklärte er es für nicht angängig, die besagten Aufblähungen der Erlenpilzfäden als Sporangien, also als normale Fruktifikationen, zu deuten. „Die aus Eiweiß bestehenden Portionen“, meint er, „welche in ihnen (den Sporangien) eingeschlossen sind, haben nur äußerlich eine entfernte Aehnlichkeit mit Sporen. Ihre sehr wechselnde, unregelmäßige Gestalt und vor allem der Umstand, daß sie zuletzt resorbiert werden, verbietet jeglichen Vergleich mit Sporen. Im Gegenteil sind die blasenförmigen Aufblähungen gestaltlich wie stofflich auffallend ähnlich und vollständig analog den aufgeblähten, mit Eiweiß erfüllten, keulen- oder kopfförmigen Bakteroidenformen bei den Legumi-

nosen. Mit den übrigen hier besprochenen Symbiose-Pilzen teilt auch derjenige der Erle den Verlust der selbständigen Entwicklungsfähigkeit, der mit seiner Degeneration in dem fremden Protoplasma verbunden ist. Viele künstliche Kulturen mit ganz reinen Präparaten in Hängetropfen ergaben meinerseits völliges Unverändertbleiben der Pilzkörper: auch beleben sich die Kulturen überhaupt nicht, wenn nicht, was manchmal geschieht, Bakterien auftreten. Ich kann also das, was man *Frankia subtilis* genannt hat, auch jetzt noch nicht für einen Pilz, sondern nur für etwas von pilzlicher Abkunft, für ein im Stoffwechsel einer anderen Pflanze degeneriertes, gewissermaßen zum Bestandteil der letzteren gewordenes und somit zugrunde gegangenes Lebewesen halten".

Dieser Deutung Frank's ist Hiltner (1) durch den Nachweis entgegengetreten, daß durch Impfung junger Erlenwurzeln mit zerriebener Knöllchenmasse stets Knöllchen entstehen, mithin der in den Knöllchen enthaltene Organismus durchaus kein zugrunde gegangenes Lebewesen darstellt. Nach Hiltner dringt auch der Erlenorganismus in das Innere der Wurzeln durch die Haare ein, die sich dabei ganz eigentümlich verkrümmen. Ohne Zweifel übt dabei der Organismus zunächst eine (wenn auch geringe) nachteilige Wirkung auf die Erlenpflanzen aus. Von besonderem Interesse ist, daß der Organismus einen jedenfalls enzymatischen Stoff ausscheidet, durch welchen die sämtlichen Wurzelhaare Verkrümmungen erleiden. *Frankia subtilis* ist nach Hiltner kein einzelliger Hyphomycet sondern ein bakterienartiger Organismus, dessen feine Fäden innerhalb der Knöllchen sehr leicht in stäbchenartige Glieder zerfallen. Eine ganz ähnliche Deutung der Natur des Erlenorganismus hat in jüngster Zeit auch Shibata (1) gegeben. Die Reinzüchtung des eigentümlichen Organismus, der durch seine Fähigkeit, Sporangien ausbilden zu können, ein Zwischenglied zwischen Bakterien und Pilzen darstellt und in vielen Beziehungen den Knöllchenbakterien der Leguminosen verwandt erscheint, ist noch nicht mit Sicherheit gelungen. Uebrigens leugnet auch Shibata die Sporangiumnatur der Bläschen.

Auf die Fähigkeit von Erlen (*Alnus glutinosa*)-Pflanzen, mit Hilfe ihrer Wurzelknöllchen **Stickstoff sammeln** zu können, haben zuerst Nobbe und Hiltner (2) hingewiesen, ohne aber zunächst Beweismaterial hierfür zu erbringen. Auch R. Dinger (1), der sich mit dieser Frage beschäftigte, konnte diese Fähigkeit nur wahrscheinlich machen. Einen endgültigen Beweis erbrachte Hiltner (1), demzufolge der Erle sogar in sehr hohem Maße das Vermögen zukommt, den freien Stickstoff der Luft zu verwerten. Setzt man z. B. junge, in Erde herangewachsene Erlenpflänzchen in stickstoffreien Sand um, so beginnen jene, die keine Knöllchen besitzen oder von deren Wurzeln man die Knöllchen entfernt hat, nach wenigen Tagen zu vergilben, die noch zur Entfaltung gelangenden Blätter werden immer kleiner, und schließlich stellen die Pflanzen ihren Zuwachs ganz ein. Knöllchenbesitzende Erlenpflänzchen dagegen wachsen in stickstoffreiem Sande normal weiter. Von besonderem Interesse ist, daß die Erlenknöllchen im Gegensatz zu den Leguminosenknöllchen auch unter Wasser ihre volle Wirksamkeit entfalten. Nobbe und Hiltner haben in stickstoffreien Nährlösungen 4—5jährige Erlen gezogen, die schließlich eine Höhe von $1^1/_2$ m erreichten, während unter sonst gleichen Umständen knöllchenfreie Pflanzen nicht über 5 cm hoch wurden. Wenn neuerdings A. Möller (2) angibt, es wäre der Versuch, das Stickstoffsammlungsvermögen für knöllchenbesitzende Nichtleguminosen nachzuweisen, bisher nicht in einem einzigen

Falle mit ähnlicher Sicherheit geglückt wie für die Leguminosen, so dürfte ein Blick auf *Fig. 12* das Gegenteil lehren. Zu derselben ist zu bemerken, daß die in der Mitte stehende ungeimpfte Pflanze nicht einmal so hoch geworden wäre, wenn sie nicht spontan von Zeit zu Zeit einige kleine Knöllchen entwickelt hätte, die man immer wieder entfernte, wodurch stets sofort der beginnenden Ergrünung ein Vergilben der Blätter folgte.



Fig. 12. Alnus glutinosa in stickstoffreier Nährlösung gezogen. Randpflanzen mit Knöllchen, die mittlere Pflanze knöllchenfrei.

Auch für *Elaeagnus angustifolius* (die Oelweide) haben NOBBE und HILTNER den Nachweis erbracht, daß diese Pflanzenart durch den Besitz von Knöllchen ohne Bodenstickstoff zu gedeihen vermag. Der die Elaeagnus-Knöllchen erzeugende Organismus ist, wie schon BRUNCHORST fand, dem Erreger der Erlenknöllchen überaus ähnlich, scheint aber eine andere Art darzustellen.

FRANK hat, wie schon in § 7 hervorgehoben wurde, längere Zeit auch in betreff der geformten Gebilde in den Erlen- und Elaeagnaceen-Knöllchen an der Meinung festgehalten, daß sie überhaupt keine fremden Organismen, sondern Inhaltsbestandteile der Pflanzen darstellten. Erst später gab er dann die eingangs dieses Paragraphen erwähnte Deutung, nach welcher der von außen in die Wurzeln eindringende pilzartige Organismus von den Wurzelzellen verdaut würde. Neuerdings hat sich SHIBATA (1) auf Grund sehr eingehender anatomischer Studien dieser Meinung angeschlossen. Er betrachtet diese Knöllchen als endotrophe Mykorrhizen (vgl. § 13) und sucht nachzuweisen, daß bei allen endotrophen Mykorrhizen das Schicksal der Pilze (oder Bakterien) die Resorption durch die Wirtspflanze sei. In einer Entgegnung von HILTNER (5) wird aber der Nachweis geführt, daß eine solche Resorption genau wie innerhalb der Leguminosenknöllchen nur erfolgt, sobald die Pflanzen ausreichend durch Bodenstickstoff ernährt werden. In diesem Falle sind die Knöllchen für die Ernährung der Pflanzen bedeutungslos. Sobald aber die Wirtspflanzen nach Stickstoff hungern, sind sie nicht imstande, den Knöllchenorganismus zu resorbieren; dann aber zwingen

sie denselben in ihren Dienst, indem sie fortgesetzt dessen Stoffwechselprodukte zu ihrer Ernährung verwenden.

Auch sonst zeigen die Knöllchenverhältnisse bei Erlen und Elaeagnaceen vielfache Analogien mit jenen der Leguminosen. So konnte 5 Hiltner nachweisen, daß die Knöllchenbildung bei Erlen in Nährlösungen vollständig unterdrückt wird, sobald man denselben Salpeter, wenn auch nur in ganz geringen Mengen, zusetzt.

Auf die wirtschaftliche Bedeutung des Stickstoffsammlungsvermögen der Erlen und Elaeagnaceen ist bisher noch wenig hingewiesen worden. 10 Man darf aber nicht übersehen, daß die Erlen einen wichtigen Bestandteil der Flora jener Flächen bilden, die sich in Grünlandsmoore umwandelten, und daß demnach jedenfalls ein nicht unerheblicher Teil des in diesen Mooren angesammelten Stickstoffs durch knöllchenbesitzende Erlenpflanzen der Luft entnommen wurde. Was die Elaeagnaceen an- 15 belangt, so sei nur erwähnt, daß *Hippophaë* auf den stickstoffarmen Sanddünen heimisch ist, und es wäre wohl nicht unmöglich, daß man diese Pflanzenart dort bei planmäßiger Anzucht zur Bodenverbesserung und auch zur Bodenbefestigung benützen könnte. Aus der Schweiz liegt übrigens die Beobachtung vor, daß Weißerlen das Wachstum neben ihnen 20 stehender Koniferen u. dgl. günstig beeinflussen.

In den Knöllchen von *Myrica Gale* lebt nach Shibata (1) ein Pilz, der keulige Anschwellungen bildet und deshalb zu *Actinomyces* zu stellen ist.

Eigentümliche Knöllchen mit dichotomen Verzweigungen kommen 25 auch bei den Cycadeen und zwar wie es scheint bei allen Arten vor. Sie unterscheiden sich dadurch auffallend von den bisher besprochenen Knöllchen, daß in ihnen eine zu *Nostoc* oder *Anabaena* gehörige Alge lebt, die in üppiger Entwicklung eine bestimmte Rindenschicht erfüllt. Brunchorst (2) nimmt an, daß diese Knöllchen nicht durch die Algen 30 erzeugt werden, weil er sehr oft junge Knöllchen fand, die keine Algen enthielten; dagegen hat er wiederholt einen Pilz in den Cycadeenknöllchen wahrgenommen, in dem er den Erreger vermutet. Der amerikanische Forscher Schneider hat außerdem in solchen Knöllchen mehrere Bakterienarten nachweisen können. Tatsächlich unterliegt es wohl 35 keinem Zweifel, daß die Algen doch bei der Entstehung der Cycadeenknöllchen die Hauptrolle spielen; denn in den algenfreien Knöllchen, die man oft an Cycadeenwurzeln findet, fehlt die Alge sicherlich nur deswegen, weil sie von den Wurzelzellen resorbiert worden ist.

Ueber die Bedeutung der Cycadeenknöllchen liegen noch keine be- 40 stimmten Angaben vor. Bemerkenswert ist jedenfalls, daß sie die Neigung haben, über die Oberfläche der Erde hervorzubrechen, so daß sie oft die Erde in Cycadeenkübeln vollständig überdecken. Die Gärtner geben an, man dürfe diese Knöllchen nicht entfernen, weil die Pflanzen durch sie atmeten. Man geht aber wohl in der Annahme nicht fehl, 45 daß sie auch mit der Stickstoffernährung der Pflanzen in Zusammenhang stehen.

§ 13. Die Mykorrhiza.

Schon vor Mitte des vorigen Jahrhunderts wurden in den Wurzeln und Rhizomen verschiedener Orchideen eigentümliche Pilzmycelien ge- 50 funden, mit deren Studium sich später zahlreiche Forscher beschäftigten.

Nähere Angaben hierüber finden sich bei WAHRLICH (1), der über die Orchideenwurzelpilze im Jahre 1886 eine ausführliche Arbeit veröffentlichte. Im Jahre 1880 beschrieb dann REESS (1) eine Verpilzung von Coniferen, namentlich Kiefernwurzeln, durch *Elaphomyces*, und KAMIEŃSKI (1), der die Verpilzung der Wurzeln der chlorophyllosen *Monotropa hypopitys* konstastierte, hat für diese Pflanze den Gedanken einer Symbiose zwischen Pilz und Wurzel behufs Nahrungszufuhr ausgesprochen.

FRANK (1), dem das Verdienst gebührt, zuerst die allgemeine Aufmerksamkeit auf das häufige Vorkommen verpilzter Wurzeln gelenkt zu haben, und der für dieselben den jetzt allgemein gebräuchlichen Namen Mykorrhiza einführte, unterscheidet **ectotrophe** Mykorrhizen, bei denen die Wurzeln von einem zusammenhängenden, sie nach außen hin abschließenden Pilzmantel umgeben sind, dessen einzelne Hyphen nur in die oberflächlichen Schichten der Wurzeln eindringen, und **endotrophe** Mykorrhizen, bei denen sich die Mycelien im Innern der Wurzeln, und zwar meist in ganz bestimmten Schichten derselben, vorfinden. Ectotrophe Mykorrhizen besitzen nach FRANK fast alle Coniferen und Cupuliferen, endotrophe kommen bei Orchideen (vergl. *Fig. 13*), Ericaceen und anderen Pflanzenfamilien vor. v. TUBEUF (1) hat aber später den Nachweis geführt, daß sich endotrophe Mykorrhizen auch bei verschiedenen Coniferen vorfinden.

SCHLICHT (1), dem Schüler FRANK's, gelang es, nachzuweisen, daß der Mykorrhiza eine noch viel weitere Verbreitung zukommt, als selbst FRANK angenommen hatte, und JANSE (1) hat den gleichen Nachweis auch für die Flora der westjavanischen Bergwälder geführt. Nach STAHL (1), der im Jahre 1900 eine zusammenfassende Uebersicht über das Vorkommen der Mykorrhizabildung gab, fehlt sie nur allen submersen und schwimmenden Wassergewächsen und einzelnen artenreichen Familien (Cyperaceen, Cruciferen, Polypodiaceen u. a.), während sie bei der Mehrzahl der höheren Pflanzen entweder ganz regelmäßig oder wenigstens gelegentlich vorkommt.

Bezüglich der Artzugehörigkeit der mykorrhizabildenden Pilze lassen die Beobachtungen fast aller Forscher schließen, daß wohl

Fig. 13. *Neottia Nidus avis* RICH. und (rechts) *Corallorrhiza innata* BR. mit Mykorrhizen. Nach v. TUBEUF.

sehr viele Pilzarten mit den Wurzeln höherer Pflanzen in Symbiose treten können; dagegen scheint es ziemlich sicher, daß mindestens die endotrophen Mykorrhizen der einzelnen Pflanzenarten meist durch denselben Pilz veranlaßt werden. Außer verschiedenen Waldschwämmen 5 wurden namentlich Nectriaceen in Mykorrhizen gefunden, und neuerdings hat es A. Möller (2) wahrscheinlich gemacht, daß bei Kiefern eine Mucorart die Verpilzung der Wurzeln veranlaßt.

Bei der überaus großen Verbreitung der Mykorrhiza ist von vornherein anzunehmen, daß sie im Leben der Pflanzen eine wichtige Rolle 10 spielt; doch ist bisher eine befriedigende Lösung der Frage, worin ihre Bedeutung eigentlich liegt, mit voller Sicherheit noch nicht gefunden.

An dieser Stelle haben wir uns übrigens nicht mit dem Problem im allgemeinen zu befassen, sondern lediglich die Frage zu erörtern, ob durch das Zusammenleben von Pilzen mit Wurzeln höherer Pflanzen 15 etwa in ähnlicher Weise wie durch die Wechselbeziehungen zwischen Knöllchenbakterien und Wirtspflanzen eine Bindung des freien Luftstickstoffs erfolgen kann. Dabei wird es allerdings nicht zu umgehen sein, mindestens in Kürze zu schildern, welche Anschauungen über die Bedeutung der Mykorrhiza bisher zutage getreten sind und worauf sich 20 diese gründen.

Darüber, daß echte Mykorrhizen den sie tragenden Pflanzen nicht schädlich, sondern eher nützlich sind, besteht zur Zeit ziemliche Uebereinstimmung. Frank vertrat zunächst die Anschauung, daß für gewisse Pflanzenarten Mykorrhizen durchaus unentbehrlich seien und zwar da-25 durch, daß die Pilze die gesamte Zufuhr von Wasser- und Bodennährstoffen besorgten. Ein besonderes Gewicht legte er dabei auch auf die durch die Pilze vermittelte Nutzbarmachung der organischen Humusbestandteile. Eine Stütze für seine Theorie der Humusausnützung fand er nicht nur in der Tatsache, daß *Monotropa* und andere chlorophyll-30 freie oder chlorophyllarme Phanerogamen sich allem Anscheine nach ihren Kohlenstoffbedarf durch Wurzelpilze decken, sondern auch in dem Ergebnis einiger Experimente mit Buchen und Kiefern, die in sterilisiertem Boden, wo sie nicht imstande waren, Mykorrhizen zu bilden, allmählich zugrunde gingen. Dabei ließ er aber unberücksichtigt, daß 35 tatsächlich gut gedeihende Kiefern und Buchen nicht bloß in der freien Natur sehr oft ohne Mykorrhiza vorkommen, und daß diese Pflanzen auch schon wiederholt in künstlichen, durchaus humusfreien Medien zu normaler Entwicklung gebracht wurden. Das Nichtgedeihen von Buchen und Kiefern in sterilisiertem Boden ist zudem sicherlich mehr darin be-40 gründet, daß sich in humusreichen Böden durch das Sterilisieren für das Wachstum der Pflanzen schädliche Produkte bilden, wie Tharander Versuche ergeben haben, über die Richter (1) eingehende Angaben gemacht hat. Neuerdings hat außerdem A. Möller (2) dargetan, daß im Eberswalder Forst die Kiefern Mykorrhizen nicht in den humusreichen 45 Schichten, sondern im Gegenteil in einer fast humusfreien Sandschichte ausbilden und P. E. Müller konnte auf den jütländischen Heiden das Vorkommen von Mykorrhizen auf Böden nachweisen, die überhaupt gänzlich frei von Humus sind. Immerhin dürfte mindestens für die ectotrophe Mykorrhiza in vielen Fällen die Frank'sche Anschauung von 50 der Bedeutung des Waldhumus für die Ernährung mykorrhizatragender Pflanzen nicht von der Hand zu weisen sein.

Für die endotrophen Mykorrhizen, bei denen die Pilzmycelien vielfach überhaupt jeder Verbindung mit dem die Wurzel umgebenden

Medium ermangeln, läßt allerdings Frank's Annahme völlig im Stich, und er selbst hat denn auch später die Bedeutung der endotrophen Mykorrhizen darin gesucht, daß in diesen Fällen die Pilze ihre Eiweißstoffe an die sie beherbergenden Pflanzen abgeben. Er bezeichnete die endotrophen Mykorrhizen geradezu als Pilzfallen und die sie führenden Gewächse als pilzverdauende Pflanzen, die den insectivoren Pflanzen an die Seite zu stellen seien.

In der Tat haben verschiedene Forscher, namentlich Magnus (1) und neuerdings Shibata (1) beobachten können, daß in den endotrophen Mykorrhizen die Pilzfäden allmählich resorbiert werden, und Shibata konnte auch in den mit Pilzfäden erfüllten Wurzelzellen verschiedener Pflanzenarten ein proteolytisches Enzym nachweisen.

Zu einer wesentlich anderen Auffassung ist Stahl (1) gelangt. Jahrelange Beobachtungen haben ihn zur Aufstellung der Hypothese geführt, daß die Mykorrhizenbildung höchst wahrscheinlich mit der erschwerten Nährsalzgewinnung in irgend einem näheren Zusammenhang stehen müsse. Er findet, daß alle mykorrhizenfreien Pflanzen ihren Bedarf an Nährsalzen dadurch decken können, daß sie auf eine reichliche Wasserdurchströmung eingerichtet sind, während umgekehrt obligate Mykorrhizenpflanzen eine geringe Transpiration zeigen und deshalb zur Deckung ihres Bedarfs an Nährsalzen darauf angewiesen sind, sich die Bodenpilze nutzbar zu machen, die sonst für sich allein gerade in dieser Richtung ihre stärksten Konkurrenten sind.

Die Stahl'sche Anschauung über den Sinn der Mykorrhizenbildung hat jedoch im allgemeinen wenig Anklang gefunden, obgleich sie an sich gewiß sehr der Beachtung wert ist. Namentlich v. Tubeuf (2) konnte verschiedene Beobachtungen anführen, die der Theorie Stahl's nicht günstig sind, und überdies hielt Stahl die ectotrophe und endotrophe Mykorrhiza nicht genügend auseinander. Für erstere muß nach wie vor die Frage nach ihrer Bedeutung noch als ungelöst betrachtet werden; dagegen dürfte es für die endotrophe Mykorrhiza im hohen Grade wahrscheinlich sein, daß durch sie eine Bindung des freien atmosphärischen Stickstoffs erfolgt. Diese Anschauung suchte bereits Janse (1) zu begründen, ohne daß ihm dies allerdings wirklich gelungen wäre. Nobbe und Hiltner (3) haben dann nachgewiesen, daß *Podocarpus chinensis*, deren Seitenwurzeln durch einen das Innere der Wurzeln durchziehenden, scheidewandlosen und eigentümliche Sporangien bildenden Pilz fast stets zu knöllchenartigen Gebilden verkürzt sind, jahrelang in völlig stickstoffreiem Quarzsande normal gedeiht und alljährlich neuen Zuwachs zeigt. Spricht schon diese Fähigkeit von *Podocarpus*, ohne Bodenstickstoff leben zu können, sehr für die Wahrscheinlichkeit, daß sich diese Pflanzenart durch ihre endotrophe Mykorrhiza den freien Stickstoff der Luft nutzbar machen kann, so konnte Hiltner (5) später noch weitere Tatsachen mitteilen, die kaum noch einen Zweifel hierüber lassen. Er fand nämlich, daß der Wurzelpilz von Podocarpuspflanzen, die 5 Jahre lang in stickstoffreiem Sande wuchsen, nach diesem langen Zeitraum eine besonders üppige Entwicklung zeigte und die Zellen der Seitenwurzeln so vollständig erfüllte, wie man es bei in Erde wachsenden Podocarpuspflanzen niemals findet. Wie er Shibata gegenüber hervorhob, der gerade auch in Podocarpusknöllchen die Resorption des Pilzes durch die Wirtspflanzen beobachtet hat, liegen hier die Verhältnisse genau so wie bei Erlen, Elaeagnaceen und Leguminosen, d. h. es erfolgt tatsächlich eine Resorption der in die Wurzeln eindringenden Organismen,

solange die Pflanzen ausreichend mit Bodenstickstoff ernährt werden. Sobald aber dieser letztere fehlt oder nach einer gewissen Zeit den Pflanzen nicht mehr zur Verfügung steht, stellt sich ein Gleichgewichtszustand zwischen den Wirtspflanzen und den Bakterien bzw. Pilzen ein. Es werden nun nicht mehr diese selbst resorbiert, sondern nur gewisse plasmatische Teile, die sie fortgesetzt durch Stickstoffassimilation bilden. Die Stickstoffassimilation selbst wird dabei durch die einseitige Ernährung der Organismen mit Kohlenhydraten veranlaßt. Tatsächlich konnte Hiltner an den Pilzfäden, die innerhalb tätiger Podocarpusknöllchen lebten, Plasmaausscheidungen wahrnehmen, die auffallend an jene der Bakteroiden erinnerten.

Eine sehr wesentliche Stütze hat die Anschauung, daß mindestens endotrophe Mykorrhizen stickstoffsammelnd wirken können, neuerdings durch überaus interessante Beobachtungen erfahren, welche der dänische Forstmeister P. E. Müller (1) auf den alten jütländischen Heideflächen machen konnte. Auf diesen gelingt es nämlich nicht oder nur überaus schwierig, die Fichte zu normaler Entwicklung zu bringen. Wohl kann sie 10, selbst 20 Jahre lang Zuwachs zeigen, schließlich aber geht sie unter Erscheinungen des Stickstoffhungers zugrunde. Dagegen entwickelt sich die Bergkiefer (*Pinus montana*) auf den gleichen Flächen sehr üppig. Dies wäre nun an sich nichts Auffallendes; im höchsten Grade auffallend aber ist die Tatsache, daß auch die Fichte auf diesen Flächen gedeiht, sobald sie zusammen mit der Bergkiefer wächst. Die Bergkiefer wirkt, wie die dortigen Forstleute sich ausdrücken, für die Fichte als Amme, gerade so wie knöllchenbesitzende Waldpflanzen, wie Robinien, Besenginster, Erlen und ebenso ausdauernde Lupinen und andere Leguminosen das Wachstum neben ihnen stehender Fichten oder anderer Koniferen außerordentlich begünstigen. Müller hat nun gefunden, daß die Bergkiefer im Gegensatz zur Fichte nicht nur eine ectotrophe, sondern auch eine endotrophe Mykorrhiza ausbildet, die sich von ersterer ziemlich scharf durch dichotome Verzweigungen unterscheidet, wie sie für Erlen und die meisten Leguminosenknöllchen charakteristisch sind. Unter genauester Würdigung aller denkbaren Möglichkeiten, welche diese günstige Beeinflussung der Fichten durch neben ihnen wachsende Bergkiefern bedingen können, gelangte Müller zu dem Schluß, es bleibe keine andere Erklärung als die, daß die Bergkiefer mit Hilfe ihrer endotrophen Mykorrhiza Stickstoff sammle und daß ein Teil dieses Stickstoffs auch der Fichte zugute komme.

Daraus würde also hervorgehen, daß die ectotrophe Mykorrhiza, mindestens jene der Fichte, nicht imstande ist, den Luftstickstoff zu verwerten. Ob dieser Schluß aber zwingend ist, bleibt immerhin fraglich; denn auffallenderweise entwickeln sich nach den Angaben von Müller die Fichten auf den in Betracht kommenden Flächen durchaus normal weiter, sobald es durch entsprechende Kulturmaßnahmen gelingt, sie über das gefährliche Stadium hinweg bis zum Bestandsschluß zu bringen. Es scheint nicht ausgeschlossen, daß nach erfolgtem Bestandsschluß auch die ectotrophe Mykorrhiza unter den veränderten Bodenverhältnissen nach einer anderen Richtung tätig wird.

Fehlt es somit nicht an direkten Beobachtungen, die es im hohen Grade wahrscheinlich machen, daß mindestens die endotrophen Mykorrhizen ebenso wie die Knöllchen der Leguminosen, der Erlen und der Elaeagnaceen den sie tragenden Pflanzen die Fähigkeit verleihen, den freien atmosphärischen Stickstoff verwerten zu können, so drängen zu dieser

Annahme auch die eigentümlichen Standortsverhältnisse der meisten obligaten Mykorrhizapflanzen, und schließlich wird immer wieder darauf hinzuweisen sein, daß ohne Vorhandensein einer solchen Fähigkeit es unerklärlich bleibt, wodurch beispielsweise ein auf dürftigem Sandboden herangewachsener Hochwald von Kiefern seinen überaus großen Stick- 5 stoffbedarf deckt.

Es wäre aber sicherlich verfehlt, wollte man die Bedeutung der Mykorrhiza nur in dieser einen Richtung suchen. Wie die Knöllchen der mehrjährigen Leguminosen und Erlen z. B. während des Winters sicher auch als Speicherorgane dienen und die Pflanzen zugleich vor 10 dem Auswintern schützen, so muß angenommen werden, daß auch die Bedeutung der Mykorrhizenbildung eine recht vielseitige ist. Die Frank'sche Lehre von der Ernährung der mykorrhizatragenden Wald- und Moorpflanzen durch Humus, und die Stahl'sche Deutung der Mykorrhizen als nährsalzvermittelnde Organe dürften sich in der Folge- 15 zeit trotzdem als richtig erweisen, und ebenso ist es nicht unmöglich, daß die die Wurzel umkleidenden Pilze als Schutzorganismen wirken, ähnlich wie dies Hiltner und Störmer für die von ihnen nachgewiesene Bakteriorrhiza der Leguminosen und anderer Pflanzen annehmen.

An dieser Stelle sei schließlich noch erwähnt, daß nach Hiltner 20 möglicherweise in manchen Fällen auch durch Pilzmycelien, die in oberirdischen Pflanzenorganen leben, eine Stickstoffassimilation durch das Zusammenwirken mit der Wirtspflanze zustande kommen kann. Hiltner konnte dies jedenfalls für jenen eigentümlichen Pilz, der in den Geweben und namentlich auch in den Samen von *Lolium temulentum* vorkommt, 25 wahrscheinlich machen. Dieser Pilz, der anscheinend zu der Giftigkeit des Taumellolchs in ursächlicher Beziehung steht, übt jedenfalls auf die Wirtspflanze einen fördernden Einfluß aus, was bei seinem endophytischen Charakter nur erklärlich bleibt, wenn er nicht ausschließlich auf Kosten der Pflanze lebt. 30

Literatur

zum Kapitel Die Bindung von freiem Stickstoff durch das Zusammenwirken von Schizomyceten und von Eumyceten mit höheren Pflanzen.

*__Aeby,__ J. H., (1) Landw. Versuchsstationen, 1896, Bd. 46, S. 409. *__Atwater,__ (1) Ref. Biedermanns Centralbl., 1885, Bd. 14, S. 382. *__Baeßler,__ P., (1) Bericht der Versuchsstat. Köslin für 1896. Ref. Biedermanns Centralbl., 1898, Bd. 27, S. 306. *__Benecke,__ F., (1) Centralbl. f. Bakt., 1887, Bd. 1, S. 635. *__Beijerinck,__ M. W., (1) Bot. Ztg., 1888, Bd. 46, S. 725. — (2) Ebenda, 1890, Bd. 48, S. 837. — (3) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 12, S. 687. — (4) Ebenda, 1894, Bd. 15, S. 728. *__Bouquet,__ R., (1) Journ. de l'agric. prat., 1888, Bd. 1, S. 710. *__Boussingault,__ (1) Agronomie etc., 1860, Bd. 1. *__Brunchorst,__ J., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1885, Bd. 3, S. 241. — (2) Unters. aus dem Bot. Instit. Tübingen. Dissert. 1886, S. 151. *__Buhlert,__ H., (1) Centralbl. f. Bakt., 1902, 2. Abt. Bd. 9, S. 148. *__Candolle,__ Aug. P. de, (1) Mémoires sur la famille des Légumineuses, Paris 1825, S. 22. *__Cornu,__ M., (1) Etudes sur le Phylloxera, Paris 1878, S. 159. *__Dinger,__ R., (1) Tijdschrift v. Landbowkunde, Bd. 3, S. 167. *__Eriksson,__ J., (1) Acta Univ. Lund., 1873, bez. Akademisk Afhandlinger Lund, 1874. *__Fermi,__ Cl., und __Buscaglioni,__ Centralbl. f. Bakteriol., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 24. *__Frank,__ A. B., (1) Bot. Ztg., 1879, Bd. 37, S. 832. — (2) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1885, Bd. 3. — (3) Ebenda, 1891, Bd. 9, S. 244. — (4) Landw. Jahrbücher, 1890, Bd. 19, S. 544. — (5) Ebenda, 1892, Bd. 21, S. 1. — (6) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1892, Bd. 10, S. 170 u. 390. Ref. Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 12, S. 271. — (7) Landw. Versuchsstationen, 1899, Bd. 51, S. 441. *__Gain,__ (1) Rev. générale de botanique, 1895, Bd. 7. *__Gonnermann,__ R., (1) Landw. Jahrbücher, 1894, Bd. 23, S. 648. *__Hartleb,__ R., (1) Chem.-Ztg., 1900, Bd. 24, S. 887. *__Hellriegel,__ H., (1) Zeitschr. d. Ver. f. die Rübenzuckerind. d. Deutsch. Reichs, 1886, S. 863, Ref. Centralbl. f. Bakt., 1887, Bd. 1, S. 133. *__Hellriegel,__ H., und __Wilfarth,__ H., (1) Beilageheft z. d. Zeitschr. d.

Ver. f. d. Rübenzuckerind., 1888, Nov. ***Hiltner**, L., (1) Landw. Versuchsstationen, 1895, Bd. 46, S. 153 u. Forstl. naturw. Zeitschr., 1898, H. 12. — (2) Arbeiten aus d. Biol. Abt. d. K. Gesundheitsamtes, 1900, Bd. 1, S. 177. — (3) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 273. — (4) Deutsche landw. Presse, 1902, Nr. 15. — (5) Naturwiss. Zeitschr. f. Land- u. Forstw., 1903, Bd. 1, S. 9. — (6) Ebenda, 1904, Bd. 2, S. 127 u. ausführlicher in einem Bericht über die Ergebnisse der im Jahre 1903 in Bayern ausgeführten Impfversuche mit Nitragin. Stuttgart, Eugen Ulmer. ***Hiltner**, L., u. **Störmer**, K., (1) Arbeiten aus d. Biol. Abt. d. K. Gesundheitsamtes, 1903, Bd. 3, H. 3, S. 151. ***Janse**, J. M., (1) Extrait des Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg, 1896, Bd. 14, S. 53. ***Kamieński**, (1) Bot. Ztg., 1881, Bd. 39, S. 457. ***Kirchner**, O., (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1895, Bd. 7, S. 213. ***Kny**, L., (1) Bot. Ztg., 1879, Bd. 37, Nr. 34. ***Koch**, A., (1) Bot. Ztg., 1890, Bd. 48, S. 607. ***Kossowitsch**, P., (1) Bot. Ztg., 1892, Bd. 50, S. 697. ***Kreußler**, (1) Biedermann's Centralbl., 1892, Bd. 21, S. 257. ***Lachmann**, J., (1) Zeitschr. d. kgl. Lehranstalt u. Versuchsstat. Poppelsdorf, 1858, H. 1. Neuer Abdr. in Biedermanns Centralbl., 1891, Bd. 20, S. 837. ***Lawes** u. **Gilbert**, (1) Philosophical Transact., 1861, Bd. 151, II, S. 431. ***Lecomte**, H., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1894, Bd. 119, S. 302. ***Magnus**, W., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1900, Bd. 35, S. 1. ***Malpighi**, (1) Opera omnia, Leiden, 1867, II., S. 126. ***Mazé**, (1) Ann. Pasteur, 1896, Bd. 10, S. 287. — (2) Ebenda, 1898, Bd. 12, S. 1. — (3) Ebenda, 1898, Bd. 12, S. 128. — (4) Ebenda, 1899, Bd. 13, S. 145. ***Möller**, A., (1) Zeitschr. f. Forst- u. Jagdw., 1902, S. 197. — (2) Ebenda, 1903, S. 257. ***Möller**, H., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1885, Bd. 3, S. 102; 1890, Bd. 8, S. 215. — (2) Ebenda, 1892, Bd. 10, S. 242 u. 568. ***Morck**, D., (1) Dissert., Leipzig 1891. Ref. Koch's Jahresber., 1891, Bd. 2, S. 207. ***Müller**, P. E., (1) Tidskrift for Skovbrug, Kopenhagen 1903. Uebersetzung in Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstw., 1903, Bd. 1, S. 289. ***Neumann**, P., (1) Landw. Versuchsstationen, 1901, Bd. 56, S. 787. ***Nobbe**, F., und **Hiltner**, L., (1) Landw. Versuchsstationen, 1893, Bd. 42, S. 459. — (2) Ebenda, 1894, Bd. 45, S. 155. — (3) Ebenda, 1898, Bd. 51, S. 241. — (4) Ebenda, 1899, Bd. 52, S. 455. — (5) Ebenda, 1901, Bd. 55, S. 141. — (6) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 449. ***Nobbe**, F., **Hiltner**, L., und **Schmid**, E., (1) Landw. Versuchsstationen, 1894, Bd. 45, S. 1; 1897, Bd. 49, S. 467. ***Nobbe**, F., **Schmid**, E., **Hiltner**, L., und **Hotter**, E., (1) Landw. Versuchsstationen, 1891, Bd. 39, S. 327. — (2) Ebenda, 1892, Bd. 41, S. 137 u. 138. ***Pfeiffer**, Th., und **Franke**, E., (1) Landw. Versuchsstationen, 1897, Bd. 48, S. 455. ***Prażmowski**, A., (1) Landw. Versuchsstationen, 1890, Bd. 37, S. 161; Bd. 38, S. 1. ***Reess**, M., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1885, Bd. 3, S. 293. ***Remy**, Th., (1) Deutsche landw. Presse, 1902, Nr. 5—7. ***Richter**, L., (1) Landw. Versuchsstationen, 1896, Bd. 42, S. 269. ***Salfeld**, A., (1) Deutsche landw. Presse, 1892, S. 648. — (2) Ebenda, 1894, Nr. 83. — (3) Landw. Jahrbücher, 1898, Bd. 27, Ergänzungsbd. IV, S. 444. ***Schindler**, F., (1) Journ. f. Landw., 1885, Bd. 33, S. 325. ***Schlicht**, A., (1) Inaug.-Dissert. Erlangen 1889. ***Schlösing**, Th. fils, et **Laurent**, E., (1) Ann. Pasteur, 1892, Bd. 6, S. 65 u. 824. ***Schneider**, A., (1) Bull. of the Torrey Botan. Club, 1892, Vergl. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1894, Bd. 12, S. 11. ***Schultz-Lupitz**, (1) Die Kalidüngung auf leichtem Boden. Berlin 1883. ***Shibata**, K., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1902, Bd. 37, S. 643. ***Stahl**, E., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1900, Bd. 34, S. 539. ***Stoklasa**, J., (1) Landw. Jahrbücher, 1895, Bd. 24, S. 827. — (2) Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich, 1898, Bd. 1, S. 78. ***Stutzer**, A., (1) Mitt. d. landw. Institute d. K. Univ. Breslau, 1900, H. 3, S. 57 und Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 897. ***Süchting**, H., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 11, S. 377. ***Thaer**, (1) Grundsätze der rationellen Landwirtsch., 1812, 4. Aufl., S. 259. ***Treviranus**, L. C., (1) Bot. Ztg., 1853, Bd. 11, S. 393. ***Tschirch**, A., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1887, Bd. 5, S. 58. ***Tubeuf**, C. v., (1) Forstl. naturw. Zeitschr., 1896, S. 43. — (2) Naturwissensch. Zeitschr. f. Land- u. Forstw., 1903, Bd. 1, S. 67. ***Wahrlich**, W., (1) Inaug.-Dissert., Straßburg 1886. ***Ward**, H. M., (1) Philosophical Transact. 1887, Bd. 178, S. 539. Ref. Biedermann's Centralbl., 1887, Bd. 16, S. 787. ***Wilfarth**, H., (1) Tagebl. d. Naturf.-Vers. Bremen. 1890. Koch's Jahresber., 1890, Bd. 1, S. 131. ***Wohltmann**, (1) Journ. f. Landw., 1902, Bd. 50, H. 4. ***Wolff**, E. von, (1) Sonderabdr. aus d. 12. Aufl. d. Prakt. Düngerlehre, Berlin 1892. ***Woronin**, M., (1) Mémoires de l'Acad. des sciences de St. Pétersbourg, 1866, 7. série, Bd. 10, Nr. 6; Bot. Ztg., 1866, Bd. 24, S. 329. ***Zinsser**, (1) Inaug.-Dissert, Leipzig 1897.

(Manuskript-Einlauf: 21. Febr. 1904.)

3. Kapitel.

Die Vergärung des Harnstoffes, der Harnsäure und der Hippursäure.

Von Dr. PIERRE MIQUEL,
Directeur du Service micrographique à l'Observatoire de Montsouris, Paris.

§ 14. Geschichtliches.

Eine der wichtigsten Quellen für die Versorgung der Pflanzen mit Stickstoff ist ohne Zweifel jene Gruppe von Verbindungen, welche man als quaternäre Eiweißabkömmlinge bezeichnet. Sie erfahren unter der Einwirkung von Kleinlebewesen einen Abbau, welcher den Stickstoff meist in Gestalt von kohlensaurem Ammon austreten läßt. Auf rein chemischem Wege kann man aus den Eiweißkörpern vermittelst der durch Erhitzen verstärkten Einwirkung von kräftigen Spaltmitteln (wie Baryumhydrat, Säuren, Alkalien etc.) den Stickstoff in Gestalt von Ammonsalzen oder von Amidokörpern austreiben, wie durch P. SCHÜTZENBERGER und BOURGEOIS (1 u. 2) u. a. gezeigt worden ist. Gegenüber dieser überstürzten, heftigen und rohen Sprengung, welche sofort die letzten Endprodukte liefert, durchläuft die durch Bakterien, und zwar schon bei gewöhnlicher Temperatur, sich abspielende Zersetzung allmählich alle Zwischenstufen. Vielleicht ist auch jene darunter, welche im tierischen Stoffwechsel so häufig ist, nämlich der Harnstoff. Weiter unten wird man sehen, daß die Harnsäure, um vollständig abgebaut zu werden, zunächst in Harnstoff und Kohlensäure zerlegt wird. Wie dem auch sei, hier begnügen wir uns vorerst mit dem Hinweis darauf, daß die Zellen des Tierkörpers die Fähigkeit haben, hochmolekular zusammengesetzte Nährstoffe aufzunehmen und den in ihnen enthaltenen Stickstoff in Gestalt von Harnstoff, Harnsäure etc. wieder auszuscheiden, welche dann durch Kleinlebewesen zunächst in Ammonsalze und weiterhin in Nitrate und andere für Pflanzen leicht assimilierbare Verbindungen umgewandelt werden, womit dann der Kreislauf des Stickstoffes aufs neue in Gang kommen kann. Von den einzelnen Gliedern dieses ewig sich erneuernden Kreislaufes haben wir in dem vorliegenden Kapitel jenes zu betrachten, welches den Abbau des Harnstoffes, der Harnsäure und der Hippursäure zu kohlensaurem Ammon besorgt.

Als **ammoniakalische Gärung** bezeichnet man einen biologischen Vorgang, durch welchen der Harnstoff unter Zutritt eines Moleküles Wasser in Ammoniak und Kohlensäure zerlegt wird. Man kann, nebenbei bemerkt, diese Spaltung auch auf anderem Wege, entweder durch Einwirkung von kräftigen Basen oder durch Erhitzen des Harnstoffes in Wasser bei 140° C, erreichen. Die Bakterienzelle führt sie vermittels eines Enzymes durch, welches mit ihrem Leben und ihrer Vermehrung innig verknüpft ist und anderen Enzymen, wie Invertin, Diastase etc., an die Seite gestellt werden kann.

Die Entstehung von kohlensaurem Ammon bei der sog. Fäulnis des Harnes hatte schon zu Ende des 18. Jahrhunderts die Aufmerk-

samkeit der Forscher auf sich gelenkt. Die wahre Ursache dieser Erscheinung entging ihnen ebenso wie später JACQUEMART (1), welcher im Jahre 1843 einige Untersuchungen darüber anstellte, und MÜLLER (1), welcher diese letzteren von 1860 an wieder aufgriff und vervollständigte. 5 Die entscheidende Feststellung blieb PASTEUR (1) vorbehalten, welcher im Jahre 1862 dazu gelangte, als Erreger der in Rede stehenden Spaltung ein Kleinlebewesen (von Kugelgestalt) anzusprechen, welchem er die Bezeichnung *torule ammoniacale* beilegte. Zwei Jahre darauf studierte VAN TIEGHEM (1 u. 2) die Frage der Gärung des Harnes und 10 künstlich bereiteter, reiner Harnstofflösungen und gelangte zu dem gleichen Ergebnisse wie sein Vorgänger. Im Jahre 1879 erweiterte MIQUEL (1) unsere Kenntnisse (vgl. Bd. I, S. 24 u. 25) über diese Erscheinung dadurch, daß er feststellte, daß sie nicht bloß durch kugelige Bakterien sondern auch durch solche von Stäbchengestalt und durch 15 Schimmelpilze (Eumyceten) zustande kommen könne. LEUBE (1 u. 2) entdeckte im Jahre 1885 dann gleichfalls verschiedene Stäbchenarten mit solcher Fähigkeit, und in der Folge wurde die Reihe der Harnstoffvergärer durch MIQUEL um eine Anzahl von Arten vervollständigt, welche in Luft, Wasser und Boden vorkommen. Zuletzt hat BEIJERINCK (1) 20 dann im Jahre 1901 Beiträge geliefert.

§ 15. Allgemeines über die Vergärer des Harnstoffes.

Vergärer von Harnstoff findet man in den meisten Familien des Reiches der Schizomyceten; aber auch eine Anzahl von Eumyceten können sich, wie schon zuvor angedeutet, in diesem Sinne betätigen. 25 Von jenen ersteren stellen Arten, denen die Wuchsform Coccus („*Urococcus*“ und „*Urosarcina*“) zukommt, eine ansehnliche Schar von Vertretern; sie sind jedoch weniger tatkräftig als die Vertreter mit Stäbchengestalt („*Urobacillus*“).

Während die ersteren selten bei Temperaturen noch lebend bleiben, 30 welche 60—70 ° C übersteigen, gibt es unter den letzteren hingegen Arten, welche, dank ihrer Fähigkeit, Endosporen bilden zu können, die Einwirkung feuchter Wärme von 90—95 ° C durch mehrere Stunden lebend überstehen; Stäbchen jedoch, welche solcher Dauerformen wahrscheinlich ermangeln, sind gegen höhere Temperatur sehr empfindlich.

35 Die Harnstoffbakterien gedeihen leicht bei gewöhnlicher, meist aber noch besser bei einer in der Nähe von 30 ° C sich haltenden Temperatur. Bei 0 ° entfalten sie keine Spalttätigkeit und selbst noch bei 5 ° C ist diese sehr mühsam und schleppend.

Obgleich sehr eifrig als Vergärer des Harnstoffes, entwickeln sich 40 diese Bakterien schlecht oder wenig merklich in den in der Bakteriologie gewöhnlich gebräuchlichen Nährböden, soferne diese nicht schon von Anfang an stark alkalisch gemacht worden sind. Beim Suchen nach diesen Wesen muß man also neutrale Nährböden vermeiden. Ja selbst mancher natürliche Harn ist deren Vermehrung nicht günstig. Sie 45 scheinen in Nährböden, welche mit Harnstoff (2 Proz.) versetzt sind, schlechter als in solchen sich zu entwickeln, welche man durch Zusatz von Ammoniumkarbonat (2—3 g auf den Liter) alkalisch gemacht hat. Dieses Verhalten erklärt sich wahrscheinlich dadurch, daß sie im ersteren Falle unter dem Übermaße ihres Spaltproduktes zu leiden 50 haben, welches in dem Nährboden in großer Menge sich ansammelt.

Nicht selten findet man aus diesem Grunde die Zellen in der Flüssigkeit, welche sie vergoren haben, dann tot vor. Die Zellvermehrung der Harnstoffbakterien ist in Nährböden, welche mit beträchtlichen Mengen von Harnstoff (2—6 Proz.) versetzt sind, immer dürftiger als in solchen, welche davon frei sind. Man ist oft erstaunt, wenn man bemerkt, daß einer sehr kräftigen Zersetzung nur eine sehr unbedeutende Vermehrung parallel läuft.

Die Harnstoffbakterien scheinen alle **aerob** zu sein. Jedoch erfordern die sehr kräftigen unter ihnen, welche 10—20 g Harnstoff (im Liter) verarbeiten, so geringe Mengen von freiem Sauerstoff, daß man früher hatte meinen können, sie zu den fakultativ Anaeroben zählen zu sollen. Wenn man aber dieses Gas so vollständig, als dies im Laboratorium möglich ist, aus den Nährböden entfernt und ferne hält, tritt die Spaltung des Harnstoffes nicht ein, auch nicht bei jenen Arten, deren Vermehrungskraft im Verhältnis sehr klein (kaum 1 Teil Zellen auf 5000—6000 Teile Harnstoff) ist.

Alle Harnstoffbakterien bringen ein lösliches **Enzym** hervor, welchem die Aufgabe zukommt, den Harnstoff in dem zu Eingang des vorhergehenden Paragraphen gekennzeichneten Sinne zu hydrolysieren. Wenn jener Stoff ganz verbraucht ist, häuft sich das nun müßige Enzym, in dem Maße als davon immer neue Mengen entstehen, im Nährboden mehr und mehr an.

Die Abscheidung der Harnstoffbakterien aus ihren Fundorten (Wasser, Erdboden, Straßenkot, Dünger usw.) und ihre **Reinzüchtung** bereitet keine Schwierigkeiten, wenn man harnstoffhaltiger Nährböden sich bedient. Am besten eignet sich Peptongelatine, welche mit 2—5 Proz. Harnstoff versetzt ist. Einige Tage nach Anlegung der Plattenzuchten, oft sogar schon nach 24 Stunden, wird man bemerken, daß die meisten der wahrnehmbaren Kolonien mit einem Hof von hantelförmigen, in Wasser unlöslichen Kristallen umgeben sind, welche aus Karbonaten und Phosphaten des Kalkes aufgebaut und durch das im Nährboden entstandene Ammoniak langsam ausgefällt worden sind. Darum ist dieser Hof auch um so weiter ausgebreitet je stärker das Spaltvermögen der Bakterien der Kolonie ist. Bisweilen umgibt diese **Aureole** von Kristallen die kleine Kolonie gleichsam als ein kreisrunder Nebel von einigen Millimetern im Durchmesser; oft aber ist die ganze Gelatineschicht binnen 24 Stunden mit solchen Kriställchen übersät. An diesem Verhalten können die Kolonien harnstoffvergärender Arten auf der Platte als solche erkannt und ohne weiteres Suchen in neuen Nährboden übertragen werden, in welchem sie dann auf ihre vermutete Fähigkeit zu prüfen sind. Als tauglich für die Vermehrung und also für die Anlegung von Zuchten können im allgemeinen die in der Bakteriologie gewöhnlichen **Nährböden** herangezogen werden, so die Bouillon (mit oder ohne Zusatz von Pepton), die einfache Auflösung von Pepton, das Hefenwasser usw., wobei noch zu beachten ist, daß manche Arten bei neutraler oder saurer Reaktion nur schwierig gedeihen, welches Verhalten für sie sehr charakteristisch ist und darum auch die Prüfung auf Reinheit erleichtert. Man macht den Nährboden genügend alkalisch und fügt 1—2 g Harnstoff (pro Liter) zu.

Wenn man den Verlauf der Gärung zu studieren wünscht, ist es unerläßlich, immer den gleichen Nährboden zu verwenden und zwar mit höchstens 2 Proz. Harnstoff, weil ein darüber hinausgehender Zusatz die Entwicklung mancher Arten beeinträchtigen und sogar, wenn die Menge

des entstehenden kohlensauren Ammons angestiegen ist, abtötend wirken kann. Wenn es sich um die Ermittlung der Gärkraft einer sehr stark hydrolysierenden Art handelt, kann man dem Nährboden nach und nach einen Zusatz von 4, 6 und sogar 10 Proz. Harnstoff geben, wobei jedoch zu beachten ist, daß dieser letztere, wenn er in der Menge von 20 bis 30 Proz. zugegen ist, die Entwicklung der Zellen vollständig aufhebt. Für genaue Untersuchungen muß man dem (zuvor durch Filtrieren oder durch Erhitzen sterilisierten) natürlichen Harne, der ja von sehr schwankender Zusammensetzung ist, künstlich bereitete Nährlösungen mit genau bekanntem Gehalt an reinem Harnstoff verwenden.

Die **Verbreitung** der Harnstoffvergärer in der Natur ist sehr groß: sie finden sich reichlich im Staub der Luft, im Wasser und im Boden vor. P. Miquel (2 u. 3) hat im Jahre 1881 festgestellt, daß von 104 Proben von Harnstoffvergärung, welche durch Organismen der atmosphärischen Niederschläge in Gang gesetzt worden waren, in 71 Fällen es Arten von *Urococcus*, in 19 von *Urobacillus* und in 10 von Eumyceten waren, welche die besagte Zersetzung durchgeführt hatten. In der Pariser Straßenluft entfällt je eine Zelle von Harnstoffvergärer auf je 67 andere Arten ohne diese Fähigkeit; von 100 Harnstoffbakterien jener Herkunft gehörten 69 zu *Urococcus* und 31 zu *Urobacillus*. Nicht minder verbreitet sind derlei Organismen in den verschiedenen Wässern, und zwar darin um so reichlicher je stärker diese verunreinigt sind. Miquel (4) fand in den Wässern der Quellen und im Flußwasser von Paris auf 1000 insgesamt vorhandene (gezählte) Bakterien 15 Harnstoffvergärer, in den Kloakenwässern 52 und in den Abläufen der Aborte 66 solcher Wesen. Der bebaute Boden weist in seiner Oberfläche 1—2 Proz. der Keime als Harnstoffbakterien auf. Im Dünger und in der Mistjauche bestehen 10 Proz. der Flora aus solchen Arten. Es ist also gar nicht überraschend, daß die Harnstoffgärung allerorten auftreten kann und sich rasch geltend macht, wenn nicht Antagonisten ihr Einhalt tun. Schließlich soll noch darauf hingewiesen werden, daß bei Kranken, welche an Entzündungen der Harnwege leiden, oft in der Harnblase sich Harnstoffbakterien ansiedeln und den Harn in dem Maße, als er dort sich nach und nach ansammelt, zersetzen. Das Studium solcher Störungserscheinungen war es, nebenbei bemerkt, welches Musculus zuerst zu der Vermutung von dem Vorkommen eines harnstoffspaltenden Enzymes geführt hat.

§ 16. Die wichtigsten Arten der Harnstoffvergärer aus den Gattungen Urococcus, Urosarcina, Micrococcus und Planosarcina.

Die Angaben, welche in morphologischer und biologischer Hinsicht über die *torule ammoniacale* durch Pasteur und durch van Tieghem, über *Micrococcus ureae* durch Cohn und durch Flügge gemacht worden waren, sind zu unvollständig, als daß man heute entscheiden könnte, ob diese einzelnen Forscher ein und dieselbe Art unter den Händen gehabt haben oder aber verwandte Arten. Letztere Annahme ist nicht unwahrscheinlich; denn in der Natur findet sich eine große Anzahl von Arten von kugeligen Harnstoffbakterien, verschieden in Größe und Gärkraft vor. P. Miquel hat deren 30 beobachtet. Die wichtigsten sollen im folgenden zunächst gekennzeichnet werden.

Urococcus van Tieghemi Miquel (synonym: *torule ammoniacale* Pasteur,

Micrococcus ureae (Cohn) tritt in Gestalt von kugeligen Zellen auf, welche einen Durchmesser von 1—1,5 μ haben und meist zu zweien, seltener zu Ketten vereint sind. Diese Art wächst in den gewöhnlichen Nährböden gut bei Zimmertemperatur. Ihre Stichzucht in harnstofffreier Nährgelatine zeigt sich nach Ablauf einiger Tage als ein Nagel mit schwächlich und fadenähnlich gestaltetem Stifte und ziemlich kräftigem, gewölbtem Kopfe. Bei Anwesenheit von Harnstoff hingegen entwickelt sich die Einimpfung nur dürftig und umgibt sich rasch mit einem hübschen Hof von Kristallen. Auch in gewöhnlicher Bouillon gedeiht diese Art: vom zweiten Tage ab tritt auf dem Grunde ein leichter Absatz auf, während die Flüssigkeit trüb wird, und eine Woche später kann man darin eine beträchtliche Menge von Enzym nachweisen. Ein Zusatz von 2 Proz. Harnstoff ist gewöhnlich nach Ablauf von 5 Tagen vollständig vergoren. Wenn der Gehalt an jenem mit 5 Proz. bemessen worden ist, bleibt die Hydrolyse stehen, sobald von ihm ungefähr 42 bis 43 g pro Liter zersetzt worden sind. Die günstigste Temperatur scheint bei 30° C zu liegen. Diese Art vermag die Einwirkung der Wärme von 47° C durch 2 Stunden nicht zu überstehen. Gegen Gifte ist sie sehr empfindlich und entwickelt sich nicht in Nährböden, welche 1 : 40000 Sublimat oder 1 : 1500 Kupfersulfat oder 1 : 500 Borsäure oder 1 : 150 Karbolsäure enthalten. An und für sich ist sie jedoch ziemlich ausdauernd und kann selbst in Zuchten, welche schon mehrere Jahre alt sind, noch lebend angetroffen werden. Sie ist unter allen Harnstoffbakterien die am weitesten verbreitete und häufigste: sie findet sich an all den schon genannten Stellen (Staub, Wasser u. s. f.) und auch in den krustigen Belägen vernachlässigter Pissoirs.

Micrococcus liquefaciens Flüggei ist durch Flügge (1) beschrieben worden. Die Zellen dieser Art weisen einen Durchmesser von 1,2—2 μ auf und sind entweder einzeln oder zu Ketten von 3—10 Gliedern, manchmal auch zu kleinen Haufen vereint. Sie wächst bei Zimmertemperatur in den meisten Nährböden. Auf der Gelatineplatte gibt sie nach Ablauf von 2 Tagen kleine Kolonien, welche bei schwacher Vergrößerung besehen als dunkelgraue, glattrandige Scheiben sich erweisen: die an der Oberfläche liegenden wachsen beträchtlich an und verflüssigen die Gelatine. Aehnlich ist das Verhalten in Stichzuchten. Zufolge Flügge vergärt diese Art den Harnstoff ziemlich kräftig.

Urococcus Dowdeswelli wurde durch Miquel (5) beschrieben. Diese Art findet sich ziemlich oft in Luft, Boden und Wasser. Ihre Zellen sind eiförmig, ohne Eigenbewegung, messen 2—3,4 μ in der Länge und 1 bis 1,2 μ in der Breite und treten gewöhnlich entweder einzeln oder zu Paaren, manchmal aber auch zu kurzen Ketten oder kleinen Haufen vereint auf. Ihre Kolonien auf gewöhnlicher Nährgelatine sind kugelig oder scheibenförmig, anfangs weiß, später gelblich und warzig. Die Stichzucht wächst zu einem kräftigen Nagel mit konvexem Kopfe aus. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Bei 30° C gehaltene Strichzuchten auf Agar oder Kartoffeln entwickeln sich zu rasch gelb werdenden Belägen, welche bald über einen großen Teil des Nährbodens sich ausbreiten. In gewöhnlicher Bouillon tritt binnen 24 Stunden leichte Trübung und bald ein gelblicher Absatz am Grunde auf. Ein Zusatz von 2 Proz. Harnstoff ist am Ende des vierten Tages vollständig vergoren. Durch zweistündiges Verweilen in feuchter Wärme bei 49° C wird diese Art abgetötet. Auch gegen Gifte ist sie sehr empfindlich und entwickelt sich nicht, wenn zugegen sind: Sublimat 1 : 60000 oder Kupfersulfat

1 : 1500 oder Borsäure 1 : 300 oder Karbolsäure 1 : 100. Das harnstoffspaltende Enzym kann man in den Zuchten binnen einer Woche schon auffinden. Unter günstigen Bedingungen vergärt sie 37—38 g Harnstoff im Liter.

Urosarcina Hansenii, durch MIQUEL (6) in Wasser und Luft aufgefunden, bildet kugelige Zellen von veränderlicher Größe, welche gewöhnlich zu vieren (Tetraden) oder zu Paketen, manchmal aber zu unregelmäßigen Haufen vereint sind und keine Eigenbewegung zeigen. Auch sie ist mit den gebräuchlichen Nährböden zufrieden und gedeiht bei 30° C noch besser als bei Zimmertemperatur. Auf gewöhnliche Nährgelatine geimpft zeigt sie sich, bei 20—22° C gehalten, schon am folgenden Tage zu Strichen oder Kolonien entwickelt, welche nach Ablauf von 48 Stunden ausgesprochen gelb sind und selbst nach einigen Wochen ihre Vergrößerung noch nicht eingestellt haben. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Wenn hingegen dieser Nährboden mit Harnstoff versetzt worden ist, wächst die Zucht nur dürftig und umgibt sich mit einem Hofe der schon zuvor gekennzeichneten Kristalle. In gewöhnlicher Bouillon bemerkt man einen Tag nach der Beimpfung schon Entwicklung, jedoch tritt keinerlei Trübung der Flüssigkeit wohl aber an den Wänden des Gefäßes ein gelber, oft strahliger Niederschlag von sandiger Beschaffenheit auf, welcher an der Unterlage leicht anhaftet. In einer mit 2 Proz. Harnstoff versetzten Bouillon setzt die Gärung binnen 24 Stunden ein, ist aber erst nach ungefähr 12 Tagen beendigt. Diese Art widersteht nicht der Einwirkung feuchter Wärme von 65° C durch 2 Stunden. Sie wächst nicht in Nährböden, welche enthalten: Sublimat 1:40 000 oder Kupfersulfat 1:500 oder Borsäure 1 : 400 oder Karbolsäure 1 : 100.

Planosarcina ureae ist durch BEIJERINCK (1) beschrieben worden. Auf festen, wie auch in flüssigen Nährböden tritt sie in Gestalt von Paketen (*Fig. 14*) auf, welche aus 4—8 kugeligen Zellen von 0,7—1,2 μ Durchmesser bestehen. Diese weisen Eigenbewegung (vgl. § 37, S. 144 des I. Bandes) auf und sind an ihrem Umfange mit Geißeln versehen, deren Länge um das 7—8fache die Abmessung der Pakete übertrifft. Die Kolonien auf Gelatine sind gelb und nicht verflüssigend. Im Gegensatze zu der vorgenannten Art ist diese hier sehr gärkräftig; sie kann innerhalb 5 Tagen bis 3 Proz. Harnstoff verarbeiten. Sie bildet kugelige Endosporen von 0,6 μ Durchmesser, welche die Einwirkung feuchter Wärme von 80° C durch 10 Minuten zu ertragen vermögen.

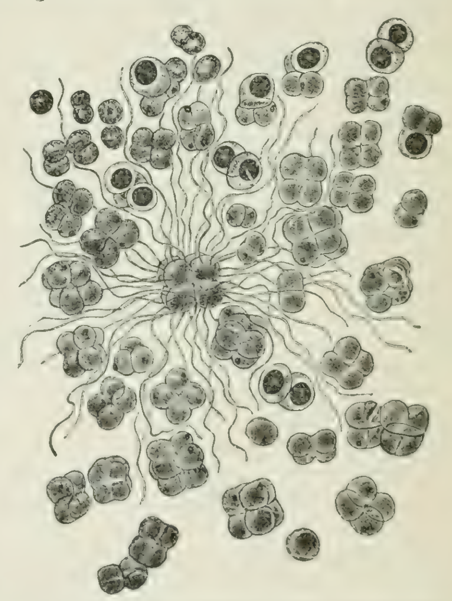


Fig. 14. *Planosarcina ureae* BEIJERINCK. In der Mitte ein Paket mit der wahrscheinlichen Anordnung der Geißeln; diese sind ungefähr 7 mal so lang als die Zelle. Die (12) sporenbildenden Zellen haben ihren Inhalt durch diesen Vorgang größtenteils eingebüßt. Die Sporen sind rund. — Vergr. 2580. Nach BEIJERINCK.

§ 17. Die wichtigsten Arten aus der Gattung Urobacillus.

Urobacillus Pasteurii ist durch Miquel (7) in den Abläufen der Aborte, im Fluß- und im Kanalwasser entdeckt und dann auch durch Beijerinck (1) studiert worden. Er tritt in Gestalt von Stäbchen auf, welche bei einer Breite von 1—1,2 μ eine wechselnde Länge aufweisen, abgerundete Enden haben und entweder als einzelne Zellen oder aber zu zweien oder zu kurzen Ketten vereint vorkommen. Beijerinck hat an ihm lange Geißeln (*Fig. 15*) nachgewiesen. Diese Art bildet stark glänzende, schwach eiförmige Endosporen, welche die Einwirkung feuchter Wärme von 87—90° C durch 2 Stunden zu ertragen vermögen. In den gewöhnlich gebrauchten Nährböden entwickelt sich diese Art, die im übrigen bei Zimmertemperatur gedeiht, schlecht oder gar nicht, sofern man jene zuvor nicht mit ein wenig Harnstoff versetzt oder stark alkalisch gemacht hat. In derart vorbereiteter und auch noch mit Pepton verbesserter Bouillon sieht man einen Tag nach der Beimpfung eine leichte Trübung sich einstellen, welche rasch zunimmt, worauf dann die Flüssigkeit schleimig und fadenziehend wird und am Grunde ein schleimiger Absatz sich ansammelt, welcher schließlich nach mehreren Monaten wieder schwindet und in einen schwärzlichen Niederschlag sich umwandelt. Der Bouillon entsteigt von Anfang an ein eigenartiger fauliger Geruch, später dann ein solcher nach zersetztem Leim. Derart entwickelte Zuchten sind reich an harnstoffspaltendem Enzym. In einer mit 2 Proz. Harnstoff versetzten Bouillon ruft diese Art eine leichte Trübung hervor und vergärt jenen in manchen Fällen schon binnen 5—10 Stunden vollständig. Sie ist unter allen bisher bekannten und hier in Betracht kommenden Zersetzungserregern der gärkräftigste; sie kann 130—140 g Harnstoff (im Liter Peptonlösung) vollständig vergären und unter den gewöhnlichen Verhältnissen 3 g Harnstoff in der Stunde verarbeiten. In besonders günstigen Nährböden bewältigt sie, wie Beijerinck beobachtet hat, sogar 3,3 g pro Liter und Stunde. Stichzuchten in gewöhnlicher Nährgelatine versagen zuweilen. Wenn hingegen Entwicklung eintritt, wachsen längs des Stichkanales kleine, kugelige, weiße, vereinzelt liegende Kolonien heran, welche jedoch selbst nach Ablauf eines Jahres nicht viel an Größe zugenommen haben. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Noch kärglicher ist das Wachstum in einer mit Harnstoff versetzten Gelatine, welche aber bald mit den wiederholt schon gekennzeichneten

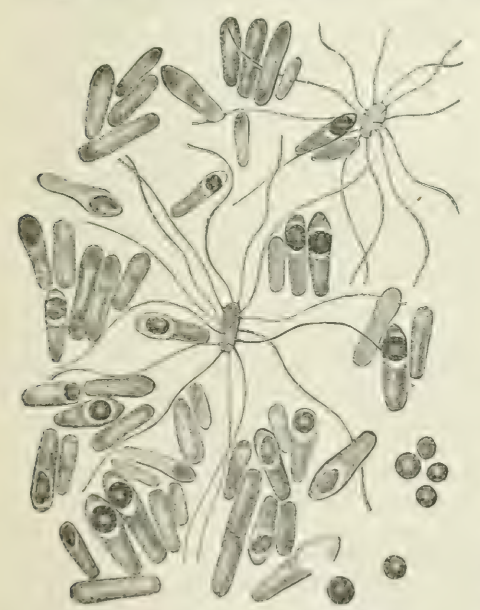


Fig. 15. *Urobacillus Pasteurii* Miquel. In der Mitte und oben rechts sind die Geißeln in ihrer wahrscheinlichen Gestalt am lebenden Bakterienleib gezeichnet. Alles übrige genau nach der Natur. Rechts unten 6 einzelne kugelige Sporen. — Vergr. 2580. Nach Beijerinck.

Kristallen sich reich erfüllt und einen starken Ammoniakgeruch aushaucht. Die für die Harnstoffzersetzung durch diese Art günstigste Temperatur scheint zwischen 30 und 35° C zu liegen; bei 8—10° C verläuft der Vorgang sehr langsam, und bei 0° oder bei 50° C bleibt er aus. Die Endosporen dieser Art sind sehr lebenszäh; MIQUEL (13) hat sie in einer getrockneten Erdprobe, welche durch 18 Jahre in einer versiegelten Glasröhre aufbewahrt worden war, noch entwicklungsfähig befunden. Besser als alle anderen Harnstoffbakterien verträgt diese Art die Einwirkung von Giften, aber auch sie vermag nicht, sich am Leben zu erhalten, wenn man der mit Harnstoff versetzten Bouillon noch zugefügt hat: Silbernitrat 1 : 15000 oder Sublimat 1 : 9000 oder Kupfersulfat 1 : 1000 oder Borsäure 1 : 300 oder Karbolsäure 1 : 65. Für die Zwecke der Bereitung hochhältiger Lösungen des harnstoffspaltenden Enzymes ist diese Art ganz besonders tauglich; sie gehört in die recht kleine Gruppe jener Bazillen, welche fähig sind, nach vollzogener vollständiger Vergärung einer mit 2—3 Proz. Harnstoff versetzten Bouillon noch weiterhin beträchtliche Mengen jenes Enzymes hervorzubringen. Dieses Verhalten macht sich auch in dem natürlichen Harne geltend. Die Entdeckung des Enzymes durch Musculus ist wohl dadurch ermöglicht worden.

Urobacillus Duclauxii, durch MIQUEL (2—7) zuerst im Kanalwasser aufgefunden und später auch im Flußwasser und im Boden nachgewiesen, bildet schlanke Stäbchen von 0,6—0,8 μ Breite und 2—10 μ Länge und zeigt kräftige Eigenbewegung nur dann, wenn der Nährboden schwach alkalisch ist, nicht aber wenn er eine größere Menge von Ammoniumkarbonat enthält. Diese Art bildet kleine, elliptische, stark glänzende Endosporen, welche die Einwirkung feuchter Wärme von 95° C durch 2 Stunden ertragen. Sie wächst in den gewöhnlichen Nährböden nicht; man muß diese mit Harnstoff versetzen oder mit Ammoniumkarbonat stark alkalisch machen, wenn Entwicklung eintreten soll. Die günstigste Temperatur scheint um 40° C herum zu liegen. In einer mit Harnstoff versetzten Gelatine wächst die Einsaat im Verlaufe von 24 Stunden zu kleinen, kaum sichtbaren Kolonien aus, während gleichzeitig Kristallausscheidung sich reichlich einstellt. Die Kolonien nehmen weiterhin an Größe nicht mehr zu. Die Gelatine wird nicht verflüssigt; jedoch bemerkt man, wie bei anderen kräftigen Harnstoffvergärern so auch hier, daß das entbundene Ammoniak auf die Gelatine derart einwirkt, daß diese nach Ablauf von 40—50 Tagen in eine klare, sirupdicke, schleimige Masse umgewandelt ist, und zwar, wie noch besonders betont sei, ohne unmittelbares Zutun der Bakterien. In Bouillon wird ein Zusatz von 2 Proz. Harnstoff binnen 24 Stunden vollständig vergoren; wenn er bis 10 Proz. gesteigert wird, bleibt gewöhnlich ein gewisser Teil davon unberührt, jedoch kann man nach Ablauf von 10—12 Tagen feststellen, daß 7,5—9,5 Proz. verarbeitet worden sind. Durch Filtration zuvor sterilisierter natürlicher Harn wird durch diese Art nicht angegriffen; wenn er jedoch vor der Beimpfung neutralisiert worden ist, dann setzt die Vergärung ein und verläuft rasch. Die Vermehrung der Zellen dieser Art tritt nicht ein, wenn der Nährboden enthält: Silbernitrat 1 : 25000 oder Sublimat 1 : 8000 oder Kupfersulfat 1 : 1000 oder Borsäure 1 : 100 oder Karbolsäure 1 : 20.

Urobacillus Freudenreichii ist durch MIQUEL (9) aus dem Staube der Luft, aus dem Erdboden, aus dem Miste der Wiederkäuer und aus Flußwasser abgeschieden worden. Diese aerobe Art tritt in Gestalt von Stäbchen mit abgerundeten Enden auf. Die Zellen sind mit Eigenbewegung

begabt und messen ungefähr 1 μ in der Breite. In flüssigen Nährböden entwickelt, erreichen sie eine Länge von 5—6 μ, auf festen hingegen wachsen sie zu Fäden aus, ähnlich denen des Milzbrandbazillus. Diese Art bildet elliptische, glänzende Endosporen, welche die feuchte Wärme von 94° C durch 2 Stunden zu ertragen vermögen. Die Stichzucht in gewöhnlicher Nährgelatine wächst an der Stelle des Eintrittes der Impfnadel zu einem rahmigen Fleck mit unregelmäßigem Umriß von 3—4 mm Durchmesser heran; zwischen dem 8. und 10. Tage sinkt dieser Fleck dann in der inzwischen unter ihm entstandenen, napfähnlichen, mit trüber und schleimiger Flüssigkeit erfüllten Vertiefung (Verflüssigungstrichter) unter, worauf die Verflüssigung des Nährbodens weiter vorschreitet und nach einem Monat vollständig ist. Plattenzuchten auf einer mit Harnstoff versetzten Nährgelatine entwickeln weiße, vollkommen kugelige Kolonien, welche während ungefähr einer Woche an Größe zunehmen und mit einem ziemlich ausgedehnten Hofe von feinen Kristallen sich umgeben; dieser Nährboden wird jedoch nicht verflüssigt. In gewöhnlicher Bouillon angelegte Zuchten geben sich nach 2—3 Tagen durch eine leichte Trübung zu erkennen, welche ein wenig später wieder schwindet und einem geringfügigen, weißlichen Absatze Platz macht. In einer mit 2 Proz. Harnstoff versetzten Bouillon ist die Vergärung gewöhnlich nach 4 Tagen beendet. Die dafür günstigste Temperatur liegt zwischen 30 und 35° C. Die Gärung wird vollständig unterdrückt durch Zusatz von: Sublimat 1 : 25000 oder Kupfersulfat 1 : 2000 oder Borsäure 1 : 200 oder Karbolsäure 1 : 50.

Urobacillus Maddoxii, durch MIQUEL (10) in Kloakenflüssigkeit und im Flußwasser und sehr selten auch im Staub der Luft aufgefunden, bildet 3—6 μ lange und 1 μ breite Stäbchen, welche Eigenbewegung zeigen. In alten Zuchten findet man seltsame Involutionsformen, welche in ihrer Gestalt manchen Hefen ähneln. Die Endosporen bei dieser Art sind eiförmig und vermögen feuchte Wärme von 94° C durch zwei Stunden zu überdauern. Das Wachstum in gewöhnlicher Bouillon ist schlecht. Ein Zusatz von 2 Proz. Harnstoff hingegen wird binnen 3 Tagen vollständig vergoren. Züchtungsversuche auf gewöhnlicher Nährgelatine schlagen oft fehl. Und selbst bei Anwesenheit von Harnstoff ist die Entwicklung wenig deutlich und oft nur aus der Bildung der hantelförmigen Kristalle zu erschließen, welche das Kennzeichen eines ziemlich weit vorgeschrittenen Abbaues jenes Zusatzes sind. Auf ammoniakalisch gemachtem Nähragar wächst der Impfstrich zu einem weißen, ziemlich dichten, einige Millimeter breiten Belag aus. In Nährbouillon tritt Wachstum nicht ein, wenn diese enthält: Silbernitrat 1 : 20000 oder Sublimat 1 : 5000 oder Kupfersulfat 1 : 2000 oder Karbolsäure 1 : 200 oder Borsäure 1 : 100.

Urobacillus Schützenbergii I ist durch MIQUEL (11) in Flußwasser und in Kloakenabläufen aufgefunden worden. Er bildet sehr lebhaft sich bewegende, ovale, 1 μ lange und 0.3—0.5 μ breite Stäbchen, welche oft vereinzelt, meist aber zu Paaren vereint auftreten. Diese Art ist unfähig, Sporen zu bilden, und erliegt einer zweistündigen Einwirkung feuchter Wärme von 45° C. In gewöhnliche Bouillon eingeimpft trübt sie diese in weniger als 24 Stunden und läßt auf deren Oberfläche ein dünnes, leichtes Häutchen entstehen, welches sich auch auf den feuchten Teilen der Wände des Zuchtgefäßes noch weiter ausdehnt. Die Trübung ist noch stärker in einer mit 2 Proz. Harnstoff versetzten Bouillon, doch wird von jenem gewöhnlich nicht mehr als 1.5—1.6 Proz. (also nur drei

Viertel der Gesamtmenge) vergoren. Weil diese Art die Alkalinität des ammoniakalisch gewordenen Nährbodens nicht lange erträgt, findet man derartige Zuchten schon nach Ablauf von 5—6 Tagen abgestorben. Die Kolonien in gewöhnlicher Nährgelatine sind rund, durchscheinend, wachsen rasch und nehmen milchiges Aussehen an; die oberflächig liegenden Kolonien nehmen die Gestalt eines Näpfchens an und verflüssigen in dem Maße, als sie sich vergrößern, die Unterlage. Auf einer mit 2 Proz. Harnstoff versetzten Nährgelatine hingegen erreichen sie höchstens einen Durchmesser von 1—2 Millimetern, umgeben sich mit einem Hof von Kristallen und verflüssigen den Nährboden nicht. Auf Agar erhält man einen grünlich-weißen Belag ohne besondere Merkmale. Gegen Giftstoffe ist diese Art sehr empfindlich: sie vermag nicht in Bouillon sich zu entwickeln, wenn diese enthält: Sublimat 1 : 70000 oder Kupfersulfat 1 : 4000 oder Borsäure 1 : 800 oder Karbolsäure 1 : 100.

Urobacillus Schützenbergii II, durch R. CAMBIER (1) im Wasser des Canal de l'Ourcq in Paris entdeckt, unterscheidet sich von der vorgenannten Art hauptsächlich durch morphologische Merkmale. Er tritt in Gestalt langer und schlanker Stäbchen von 3—5 μ Länge und 0,6 μ Breite auf. In flüssigen Nährböden sind die Zellen kurz, auf Gelatine hingegen zeigen sich Fadenformen. Er hat Eigenbewegung, bildet keine Sporen, färbt sich leicht mit den gebräuchlichen Anilinfarben, jedoch nicht auch nach der Methode von GRAM. Nährgelatine verflüssigt er bei 20° C binnen 24 Stunden. Bei 37° C gehaltene Strichzuchten auf Agar entwickeln sich zu einem weißen, perlmutterartig aussehenden Belag, welcher nur wenig in die Breite wächst. Gewöhnliche Bouillon wird durch diese Art alsbald getrübt und bleibt so durch lange Zeit. Mit Harnstoff versetzte Zuchten zeigen annähernd gleiches Aussehen. Derartige Gelatine wird rasch verflüssigt, wodurch die bei den Harnstoffbakterien seltene Eigentümlichkeit dargetan ist, das proteolytische Enzym früher als das harnstoffspaltende zu bilden: denn wenn dies hier nicht so wäre, würden ja durch das Ammoniumkarbonat die Zellen früher abgetötet oder doch entwicklungsunfähig geworden sein, bevor die Verflüssigung sich geltend machen kann. Diese Art kann höchstens 12 g Harnstoff im Liter in 4 Tagen vergären. Feuchte Wärme von 42° C tötet die Zellen in 2 Stunden ab.

Urobacillus Miquelii, durch BEIJERINCK (1) im Erdboden aufgefunden, ist gleichfalls ohne die Fähigkeit zur Sporenbildung. Es ist dies eine mit Eigenbewegung begabte Art, deren Stäbchen (*Fig. 16*) entweder einzeln oder manchmal zu Paaren vereint auftreten, an ihrem Umfang eine verhältnismäßig geringe Anzahl von Geißeln aufweisen und bei ungefähr 1 μ Breite 3—4 μ nach der Länge messen. In einer mit 7 Proz. Harnstoff versetzten Bouillon hat diese Art in 8 Tagen nur 1,5 Proz. jenes Stoffes verarbeitet; sie zählt also zu den schwachen Vergärern. Die Kolonien auf Gelatine sind denen des *Bacillus asteroides* und des *Bacillus Zopfii* im Aussehen ähnlich und zeigen schwaches Verflüssigungsvermögen. Deren Farbe ist gewöhnlich gelblich-weiß, kann jedoch manchmal in ein leichtes Rosa übergehen.

Urobacillus Leubei. Mit diesem Namen hatte zuerst P. MIQUEL eine der Arten belegt, welche durch W. LEUBE (1) in dessen Untersuchungen über die ammoniakalische Harngärung beschrieben worden waren. Unter derselben Bezeichnung hat dann BEIJERINCK (1) eine Art in die Literatur eingeführt, deren Merkmale nachfolgend angegeben sind. Sie tritt in Gestalt von Stäbchen (*Fig. 17*) auf, welche gewöhnlich 1,5 μ nach der

Breite und meist 3—5 μ nach der Länge messen, an den Enden abgerundet sind und Eigenbewegung zeigen; ab und zu trifft man auch kurze Fadenformen. Geißeln scheinen nicht vorhanden zu sein. Endosporen werden gebildet; sie sind eiförmig und messen 1 μ in der Länge

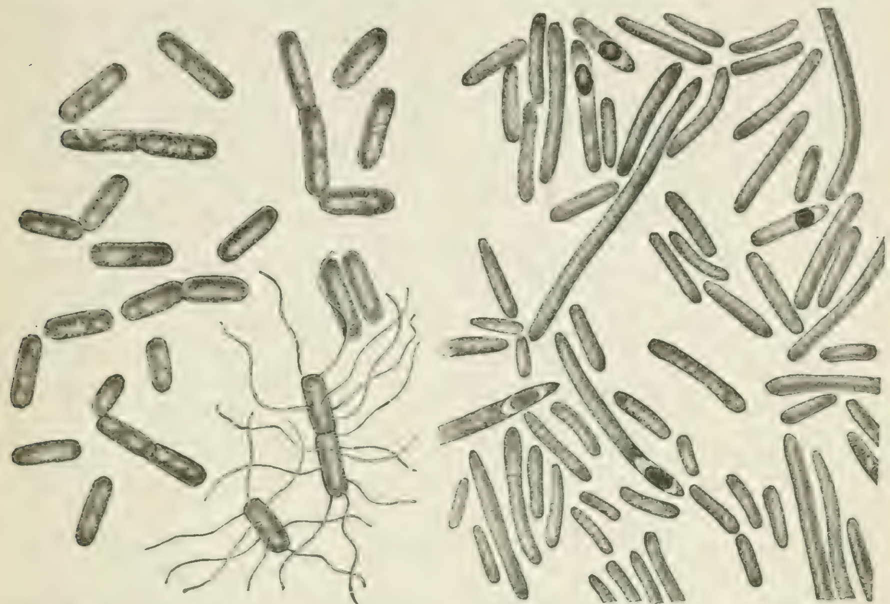


Fig. 16. Urobacillus Miquelii Beijerinck. Unten rechts zwei Zellen mit der wahrscheinlichen Anordnung der Geißeln. — Vergr. 2580. Nach Beijerinck.

Fig. 17. Urobacillus Leubii Beijerinck. Die Sporen sind länglich. Die Geißeln sind nicht abgebildet. — Vergr. 2580. Nach Beijerinck.

auf 0,8 μ in der Breite. Diese Art wächst auch auf nicht alkalisch gemachter Gelatine und bildet da Kolonien, welche nicht mehr als 2 bis 3 mm im Durchmesser erreichen; bei Anwesenheit von Ammoniumkarbonat hingegen werden sie beträchtlich größer. In einer mit 6 Proz. Harnstoff versetzten Bouillon sind nach Ablauf von 4—5 Tagen 2,5 Proz. vergoren; diese Art ist demnach nur von mittelmäßigem Gärvermögen. Die Sporen können ohne Schaden sowohl einer hohen Alkalinität als auch durch einige Zeit der Siedehitze des Wassers ausgesetzt werden. Während die vegetativen Stäbchen in Bouillon durch Chloroform binnen einer Stunde abgetötet werden, erhalten sich hingegen die Sporen durch 24 Stunden am Leben. —

Der Anzahl der in den vorstehenden Darlegungen gekennzeichneten Arten ließe sich noch eine ansehnliche Schar von anderen Harnstoffbakterien anfügen. Es muß dies mit Rücksicht auf den gegebenen Raum jedoch unterbleiben, und zwar um so mehr, als es sich immer wieder nur um solche handeln würde, welche den bisher beschriebenen ähnlich sind.

§ 18. Die Urease.

Im Jahre 1876 wies Musculus (1 u. 2) auf das Vorkommen eines Enzymes in fadenziehend und ammoniakalisch gewordenen Harnen gewisser Kranker hin, welches bei Abwesenheit von Kleinlebewesen den Harnstoff in Ammoniumkarbonat umzuwandeln vermöge. Er hielt dieses Enzym für eine krankhafte Ausscheidung der Harnblase. Pasteur und Joubert (1) bestritten diese Annahme und erklärten die von ihnen in einem ähnlichen Falle beobachtete Harnzersetzung als enzymatische Wirkung des von ihnen dann als Harnstoffvergärer beschriebenen Micrococcus.

Die Bereitung und Gewinnung dieses Enzymes ist zum ersten Male im Jahre 1890 durch P. Miquel (12) versucht worden. Er gab ihm zunächst den Namen Urase, änderte diesen aber später dann, entsprechend einem durch Bourquelot gemachten Vorschlage, in den besser klingenden Namen Urease um. Er erhielt es auf die Weise, daß er höchst gärkräftige Harnstoffbakterien in günstig zusammengesetzter Bouillon züchtete.

Nachfolgend angegebenes Verfahren läßt eine recht gute Ausbeute erzielen. In einem geräumigen Gefäße, enthaltend wässrige Peptonlösung oder noch besser eine mit Pepton versetzte Bouillon, sät man, nachdem man für alkalische Reaktion durch Zugabe von Ammoniumkarbonat oder vorteilhafter 2—3 g Harnstoff pro Liter gesorgt hat, eine sehr gärkräftige Art von Harnstoffbakterien ein und hält dann die Zucht bei 30—35° C. Um die Vermehrung der Zellen anzueifern, kann man einen sehr schwachen Strom keimfreier Luft hindurchtreiben und sich zu dem Zwecke eines Gefäßes mit flachem Boden bedienen, wie es z. B. zur Darstellung des Diphtherietoxines in Gebrauch ist. Nach Ablauf einiger Tage, oft schon nach 48 Stunden, enthält die Flüssigkeit so viel Enzym, daß dadurch im Liter 40—60 g Harnstoff in der Stunde zersetzt werden. Der Gehalt daran steigt bis zum Ende soweit an, daß dann in der gleichen Zeitspanne 100—120 g Harnstoff gespalten werden können. Man kann diese an Urease nun reiche Bouillon durch ein Biskuit-(Porzellan-)Filter treiben, ohne daß sie eine nennenswerte Einbuße an Wirkungskraft verlöre, vorausgesetzt, daß dazu mehrere Liter verwendet worden sind.

Die ureasehaltige Bouillon bewahrt ihr Zersetzungsvermögen durch 3—4 Monate, soferne zu ihr nur eine sehr geringe Menge von Luft zutreten kann oder solche überhaupt durch eine Atmosphäre von Leuchtgas oder eines anderen unschädlichen Gases abgehalten ist. Wenn solche Bouillon durch Verunreinigung mit Fremdkeimen in Zersetzung gerät, verschwindet die Urease darin binnen wenigen Tagen vollständig.

Die für die Hydrolyse durch dieses Enzym günstigste Temperatur liegt zwischen den Grenzen von 48 und 50° C. Bei der oberen erleidet es bereits eine teilweise Zersetzung; diese ist eine vollständige binnen zwei Stunden, wenn die Temperatur von 70—75° C einwirkt, und binnen einer Minute, wenn 80° C gewählt worden sind. Kälte von — 5° C schwächt es in 5—6 Tagen merklich, zerstört es jedoch nur langsam. Bei 0° C halten sich Ureaselösungen sehr gut. Versuche zur Anreicherung an diesem Enzym durch Ausfrieren haben kein befriedigendes Ergebnis gehabt.

Einige Stoffe, wie Saccharose und Glycerin, vermögen die Wirkungskraft der Urease zu verdoppeln und zu verdreifachen, vielleicht da-

durch, daß sie das Enzym vor dem zu starken Angriff jener Temperatur schützen, welche die Hydrolyse am meisten begünstigt.

Die Urease ist gegen Gifte sehr empfindlich. Quecksilbersalze schwächen deren Wirksamkeit schon in einer Gabe von 1 : 1000000 sehr stark. Kupfersulfat hindert schon bei 1 : 10000, die Borsäure bei 1 : 1000, 5 Aetznatron bei 1 : 250, Karbolsäure bei 1 : 100. Mineralsäuren bringen in der Menge von 1 : 5000 den Abbau vollständig und endgültig zum Stillstand. Auch das Chloroform wirkt stark hindernd. Ja der Harnstoff selbst kann, wenn dessen Menge die Höhe von 20 Proz. hat, fast unheilvoll werden, und wenn der Zusatz mit 40 Proz. bemessen wurde, 10 ist jede Spalttätigkeit des Enzymes lahmgelegt.

Durch Zufügung der doppelten Menge absoluten Alkohols zu einer ureasehaltigen Bouillon wird ein weißlich-gelber Niederschlag erzeugt, welcher durch Waschen mit 50-proz. Alkohol die Löslichkeit in Wasser verliert und dann halb so viel Harnstoff wie die Bouillon, aus der er 15 herstammt, zu spalten vermag.

Aus ihren Lösungen wird die Urease durch Kalkniederschläge vollständig ausgefällt. Es ist jedoch bisher nicht gelungen, sie aus derartigen Niederschlägen auszuziehen.

Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß man sich der Urease 20 zur genauen quantitativen Bestimmung des Harnstoffes sowohl im Harn als auch in anderen Flüssigkeiten bedienen kann, in denen er in schätzbarer Menge vorhanden ist.

§ 19. Die Vergärung der Harnsäure und der Hippursäure.

Die Harnsäure, welche einen Hauptbestandteil des Kotes der Vögel 25 und Schlangen ausmacht und in geringerer Menge auch im Harn der Säugetiere sich findet, ist gleichfalls der Spaltung durch Bakterien zugänglich, wobei der Harnstoff das wichtigste Spaltprodukt ist. Die ersten Untersuchungen darüber verdanken wir F. und L. Sestini (1). Diesen Forschern zufolge schwindet die Harnsäure in ihrer mit faulendem Harn 30 beimpften und der Luft ausgesetzten, wässrigen Aufschwemmung und erleidet dabei eine durch nachfolgende Gleichung ausgedrückte Zersetzung:

$$\underset{\text{Harnsäure}}{C_5H_4N_4O_3} + 8\,H_2O + O_3 = \underset{\text{Ammoniumbikarbonat}}{4\,NH_4HCO_3} + \underset{\text{Kohlensäure}}{CO_2}$$ 35

Zufolge E. Gérard (1), welcher im Jahre 1896 diese Frage wieder aufgriff, soll die Gärungsgleichung aber nicht so einfach sein und der Abbau der Harnsäure sich in zwei Stufen vollziehen. Zuerst wird sie durch Mikroorganismen, welche Gérard nicht reinzuzüchten vermocht hat, in dem Sinne zerlegt, daß Harnstoff und Tartronsäure hervorgehen: 40

$$\underset{\text{Harnsäure}}{C_5H_4N_4O_3} + 4\,H_2O = \underset{\text{Harnstoff}}{2\,CH_4N_2O} + \underset{\text{Tartronsäure}}{C_3H_4O_5}$$

Hierauf kommen dann die Harnstoffbakterien ans Werk und vergären den Harnstoff so, wie dies in den vorhergehenden Paragraphen beschrieben worden ist. Der genannte Forscher hat die Richtigkeit 45 dieser Deutung dargetan. Er verwendete einen peptonhaltigen Nährboden, der pro Liter 1 g Harnsäure enthielt, welche durch eine Zugabe von 12 g Binatriumphosphat in Lösung erhalten wurde. Unter solchen Bedingungen läßt sich feststellen, daß die Harnsäure vollständig

verschwindet und nur Harnstoff und kein Ammoniumkarbonat liefert. Jener erstere wird jedoch, wenn man die derart vergorene Flüssigkeit mit Harnstoffbakterien beimpft, vollständig in kohlensaures Ammoniak und Kohlensäure gespalten.

Später hat dann G. Ulpiani (1) aus dem Kote der Hühner eine aerobe Bakterienart reingezüchtet, welche die Harnsäure entsprechend der Gleichung

$$\underset{\text{Harnsäure}}{C_5H_4N_4O_3} + 2\,H_2O + O_3 = \underset{\text{Harnstoff}}{2\,CO(NH_2)_2} + \underset{\text{Kohlensäure}}{3\,CO_2}$$

spaltet. Diese Gleichung unterscheidet sich von derjenigen von F. und L. Sestini nur dadurch, daß sie die zur Hydrolyse des Harnstoffes erforderlichen Moleküle Wasser nicht aufführt. Diese Bakterienart tritt in ovalen Kurzstäbchen auf, welche von einer mit Karbol-Fuchsin oder nach der Methode von Gram färbbaren Kapsel umgeben sind. Die Kolonien auf einem mit Harnsäure versetzten Nähragar sind gelblichweiß und mit einem schwachen lichten Hofe umgeben. Sie dringen in die Tiefe nicht vor. Die Kolonien auf Gelatine sind klein und verflüssigen nicht. Die Stichzucht in diesem letztgenannten Nährboden zeigt eine kaum sichtbare Entwicklung im Stichkanal, wohl aber an der Oberfläche die Bildung eines gelblichen, scheibenförmigen, erhabenen, in der Mitte dickeren Kopfes. In einer mit Harnsäure beschickten Bouillon zeigt diese Art schon nach 24 Stunden kräftige Entwicklung; die Flüssigkeit wird trüb und bedeckt sich mit einem dünnen, bläulichen Häutchen. Die für die Vermehrung günstigste Temperatur liegt bei 39° C. Die Art gedeiht leicht zwischen 29° und 40° C. und stirbt bei 50° C. unbedingt. Sie gehört wahrscheinlich zu einer bisher noch nicht untersuchten Gruppe von Mikroorganismen, welche das gemeinsame Merkmal haben, die Harnsäure spalten zu können. —

Durch Liebig wurde im Jahre 1829 festgestellt, daß der Harn der Pflanzenfresser nicht, wie man bis dahin gemeint hatte, Benzoesäure sondern H i p p u r s ä u r e enthält, deren Vorkommen auch im Menschenharne er dann im Jahre 1844 erweisen konnte. Zwei Jahre darauf bemerkte Dessaignes (1), daß diese Säure sich durch den Einfluß sowohl von Säuren als auch von Alkalien unter Aufnahme eines Moleküles Wasser in Benzoesäure und Glycocoll spalte:

$$\underset{\text{Hippursäure}}{C_9H_9NO_3} + H_2O = \underset{\text{Benzoesäure}}{C_7H_6O_2} + \underset{\text{Glycocoll}}{C_2H_5NO_2}$$

Im Harne des Menschen finden sich nur geringe Mengen hippursaurer Salze, ungefähr 0,5 g im Liter, vor, im Pferdeharn hingegen 5 g neben 30 g Harnstoff und im Rinderharn 16 g neben 18 g Harnstoff. Van Tieghem (1) studierte im Jahre 1864 die Umwandlung, welche die Hippursäure im Harne der Pflanzenfresser durch Kleinlebewesen erleidet: er konnte feststellen, daß diese verschwindet und Benzoesäure auftritt. Bei Prüfung des dabei entstehenden Absatzes am Grunde der gärenden Flüssigkeit fand er einen zu Ketten vereinten Micrococcus vor, welchen er für wesensgleich mit den von ihm (siehe S. 72) beobachteten Erreger der Harnstoffgärung hielt. Dieser Forscher unternahm auch Züchtungsversuche mit Hilfe künstlicher Nährlösungen, meist mit (gezuckertem oder nicht gezuckertem) Hefenwasser, das mit 2 g hippursaurem Ammon pro 150 ccm versetzt war. Einige Tage nach der Beimpfung zeigte sich darin die besagte Spaltung vollzogen. Seit-

dem sind, wie es scheint, keinerlei weitere Untersuchungen über diesen Gärungsvorgang angestellt worden, welcher übrigens erst dann einen Anreiz für die Forschung bieten wird, wenn man das Schicksal des durch diese Zersetzung entbundenen Glycocolles, also dessen Ueberführung in Stickstoffverbindungen, welche von den Pflanzen assimiliert werden 5 können, klargelegt haben wird.

Literatur

zum Kapitel Die Vergärung des Harnstoffes, der Harnsäure und der Hippursäure.

*Beijerinck, M. W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 33. *Cambier, R., (1) Ann. de microgr., 1893, Bd. 5, S. 323. *Dessaignes, (1) Ann. de chim. et de phys., 1846, 3. série, Bd. 17, S. 50. *Flügge, C., (1) Die Mikroorganismen, 3. Aufl., 1896, Bd. 2, S. 172 u. 173. *Gérard, E., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1896, Bd. 122, S. 1019 u. Bd. 123, S. 185. *Jacquemart, (1) Ann. de chim. et de phys., 1843, 3. série, Bd. 7, S. 149. *Leube, W., (1) Virchows Archiv, 1895, Bd. 100, S. 540. — (2) Deutsche mediz. Zeitg., Bd. 7, S. 379. *Miquel, P., (1) Bulletin Société chimique (Paris), 1879, Bd. 31, S. 391. — (2) Ebenda, 1878, Bd. 29, S. 387. — (3) Annuaire de l'Observatoire de Montsouris, 1882, S. 464. — (4) Ann. de microgr., 1893, Bd. 5, S. 279. — (5) Ebenda, 1893, Bd. 5, S. 209. — (6) Ebenda, 1893, Bd. 5, S. 225. — (7) Ebenda, 1889, Bd. 2, S. 13. — (8) Ebenda, 1889, Bd. 2, S. 53. — (9) Ebenda, 1889, Bd. 2, S. 488. — (10) Ebenda, 1891, Bd. 3, S. 275. — (11) Ebenda, 1892, Bd. 4, S. 58. — (12) Ebenda, 1893, Bd. 5, S. 371 und Comptes rend. de l'Ac., 1890, Bd. 111, S. 397. — (13) Ebenda, 1897, Bd. 9, S. 199. *Müller, (1) J. f. prakt. Chem., 1868, Bd. 81, S. 452. *Musculus, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1874, Bd. 78, S. 132. — (2) Ebenda, 1876, Bd. 83, S. 333. *Pasteur, L., (1) Ann. de chim. et de phys., 1862, 3. série, Bd. 64, S. 52. *Pasteur et Joubert, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1876, Bd. 83, S. 1. *Sestini, Fausto e Leone, (1) Gazetta chimica italiana, 1889, Bd. 20, S. 133 und Landw. Versuchsstationen, 1890, Bd. 38, S. 157. *Schützenberger, P., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1875, Bd. 80, S. 232 und Bd. 81, S. 1108. *Schützenberger et Bourgeois, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1876, Bd. 82, S. 262. *van Tieghem, Ph., (1) Thèse de la Faculté des sciences, Paris 1864, Nr. 256. — (2) Comptes rend. de l'Ac., 1864, Bd. 58, S. 210. *Ulpiani, C., (1) Rendiconti della Accad. dei Lincei, 1903, Bd. 12, S. 236.

(Manuskript-Einlauf: 28. Mai 1904.)

4. Kapitel.

Die Proteinfäulnis.

Von

Dr. med. MARTIN HAHN, Professor an der Universität zu München und Dr. A. SPIECKERMANN, zu Münster i. W.[1] 10

§ 20. Umgrenzung des Begriffes.

Tier- und Pflanzenkörper, in denen das Leben erloschen ist, verfallen der Zerstörung durch Pilze: die vielfach zusammengesetzten Stoffe, aus denen sie aufgebaut sind, werden in Wasser, Erde und Luft, d. h. 15 in die einfachsten Verbindungen der Elemente zerlegt. Diese Zersetzung

[1]) Die §§ 20—29 sind von Dr. SPIECKERMANN, die §§ 30 u. 31 von Prof. HAHN bearbeitet.

bezeichnet man seit alters als Fäulnis. Sind die zerfallenden Stoffe pflanzlicher Herkunft, so spricht man auch von Vermoderung. Beide Vorgänge verlaufen gewöhnlich unter Entstehung widerlich riechender Stoffe. In reichlichen Mengen werden diese bei teilweisem oder völligem Abschluß der Luft von den faulenden Massen, nur in geringem Grade bei reichlicher Lüftung erzeugt. Dieser längst bekannten Erscheinung hat man im Sprachgebrauch durch eine besondere Bezeichnung Rechnung getragen. Man nennt die ohne die Bildung unangenehmer Gerüche verlaufende Zersetzung Verwesung im Gegensatz zu der mit Gestank verbundenen Fäulnis. Früher nur vom chemischen Standpunkt aus gedeutet, hat diese Unterscheidung durch die mykologische Forschung eine physiologische Erklärung erhalten. Bei Luftabschluß wird die Zersetzung durch Anaerobe, bei Luftzutritt durch Aerobe vollführt. Ihrem Wesen nach sind Fäulnis und Vermoderung gleichartig, doch bedingt das verschiedenartige Mengenverhältnis, in dem die wichtigsten Baustoffe (Proteine, Fette, Kohlenhydrate) im Tier- und im Pflanzenleib vorhanden sind, wesentliche Abweichungen in ihrem äußerlichen Verlauf. Im Tierleib überwiegen die stickstoff- und schwefelreichen Protein- und Leimstoffe, während die Kohlenhydrate zurücktreten. Die tierische Fäulnis ist daher durch die Zersetzung der Proteine und die reichliche Bildung basischer Verbindungen des Stickstoffs und flüchtiger, ekelhaft riechender Verbindungen des Schwefels gekennzeichnet. Der Pflanzenleib besteht der Hauptmenge nach aus Kohlenhydraten: bei der pflanzlichen Fäulnis überwiegen daher die Zersetzungen dieser in Säuren. Die dabei entstehenden Gerüche bezeichnet man im Sprachgebrauch als dumpfig. Pflanzenteile, deren Zusammensetzung sich mehr der des Tierleibes nähert, wie z. B. die proteinreichen Samen, verhalten sich bei der Fäulnis ganz wie dieser.

Die Fäulnis der organischen Abfälle der Natur umschließt also eine Reihe verschiedenartiger Zersetzungen. In der Biologie hat man sich daran gewöhnt, den Begriff Fäulnis etwas enger zu fassen und bezeichnet als solche nur die Zersetzung der Proteinstoffe, während man die der Kohlenhydrate und anderer Stoffe als „Gärungen“ verschiedener Art abgetrennt hat. Doch besteht, wie auf Seite 23 des Ersten Bandes bereits ausführlich dargelegt worden ist, ein grundsätzlicher Unterschied zwischen Gärung und Fäulnis nicht, und die Bezeichnung Fäulnis hat nur die Bedeutung einer bequemen Umschreibung des Ausdruckes: Gärung der Proteinstoffe.

Das große Molekül der Proteine zerfällt bei der Fäulnis nicht glatt in einfache Stücke, sondern wird schrittweise abgebaut, so daß eine große Zahl von Verbindungen mit immer kleinerem Molekül entsteht. Die Zersetzung endet mit den einfachsten Verbindungen der Elemente, wie Ammoniak, Kohlensäure, Schwefelwasserstoff, Mercaptan, Aminen, organischen Säuren u. a. Die verschiedenen Proteine liefern bei der Zersetzung durch die Fäulnispilze im wesentlichen dieselben Abbaustoffe. Daran scheitert auch der Versuch, die Fäulnis nach den Gärungserzeugnissen weiter zu zerlegen, wie dies z. B. bei den Gärungen der Zucker möglich ist. Lassen auch die bisherigen chemischen Untersuchungen manche Unterschiede zwischen den Fäulniserzeugnissen der einzelnen Pilzarten erkennen, so sind doch unsere Kenntnisse nach dieser Richtung noch zu gering und unsicher, um danach eine Gruppierung vorzunehmen. Die Analyse eines Gemisches von Fäulnisstoffen ist eine der schwierigsten Aufgaben, die noch besonders dadurch erschwert wird, daß wir über die

Konstitution der Proteine nichts wissen und daher auch keinen Anhalt für etwa zu erwartende charakteristische Spaltungsstücke haben. Auch in der Fäulnisfähigkeit scheinen Unterschiede zwischen den verschiedenen Proteinstoffen nicht zu bestehen. Bienstock's (1, 2) Angabe, daß Fibrin nur durch strenge Anaerobe zersetzt werde, hat sich als irrtümlich erwiesen. Geringe Unterschiede haben neuerdings Pick und Joachim (1) für die Proteine des Blutserums nachgewiesen.

Die älteren Untersuchungen über die Fäulnis, die mit einem Gemisch von Bakterien unbekannter Art angestellt wurden, haben für die Mykologie nur geringen Wert gehabt. Das schließt nicht aus, daß ihre Ergebnisse für die Physiologie, insbesondere die Kenntnis der Zersetzungen im Darm, und für die Chemie der Proteinstoffe von größter Bedeutung gewesen sind.

§ 21. Bacterium termo und Bacterium vulgare.

Unter den mannigfaltigen Lebewesen, die Gottfr. Chr. Ehrenberg in faulenden Flüssigkeiten entdeckte, erschienen ihm einige Arten der Gattungen *Monas* und *Bacterium* wegen ihrer winzigen Gestalt und ihrer außerordentlichen Vermehrungsfähigkeit besonders bemerkenswert (s. Bd. I, S. 132). Er sagt von ihnen, daß sie „die Milchstraße der Organisationen für die Sehkraft im kleinsten Raume bilden" und zählt sie „zu den wichtigsten Einzelheiten der organischen Schöpfung, weil sie die erstaunenswertesten numerischen Mengen und Massen selbständiger Organismen zu bilden eingerichtet sind und oft wirklich bilden". Wegen ihrer für die damaligen optischen Hilfsmittel an der Grenze (lat. termo) der Sichtbarkeit stehenden Kleinheit, nannte er (1) sie *Monas termo*, *Monas crepusculum* (die Dämmerung) und *Bacterium termo*. Er hielt *Monas termo* für identisch mit einer Art, die schon der dänische Justizrat und Naturforscher Otto Friedrich Müller (1), der erste, der die kleinsten Lebewesen in ein System im Sinne Linné's ordnete, im Jahre 1773 unter diesem Namen beschrieben hatte. In seinem großen, im Jahre 1838 veröffentlichten Werk über die Infusorien behielt Ehrenberg (2) die beiden Spezies der Gattung *Monas* bei; *Bacterium termo* aber erklärte er für identisch mit dem von Müller beschriebenen *Vibrio lineola*. Felix Dujardin (1), der im Jahre 1841 Ehrenberg's Befunde nachprüfte, griff auf die alte Bezeichnung *Bacterium termo* zurück und stellte es mit *Monas termo* zu einer Art zusammen. Er beschrieb es wie folgt: „Gestalt zylindrisch, Länge 2—3 μ, Dicke 1,0—1,2 μ, oft paarweise verbunden, mit zitternder Bewegung." *Bacterium termo* ist in der Folge noch von vielen anderen Beobachtern in faulenden Flüssigkeiten gesehen worden. Cohn (1), Perty (1), Sanderson (1) und Eidam (1) haben seine Lebensbedingungen erforscht. Doch haben ihre Angaben nur noch historischen Wert. Als dann im Laufe der sechziger Jahre des vergangenen Jahrhunderts Pasteur die von Kützing begründete Lehre von den spezifischen Gärungserregern an vielen Beispielen bewies, da neigte man zu der Ansicht, daß auch die Fäulnis das Werk eines bestimmten Spaltpilzes sei, und im Jahre 1872 sprach Cohn (2) den Satz aus: „Die Fäulnis ist ein von Stäbchenbakterien (*Bacterium termo*) erregter chemischer Prozeß." Den Vertretern der Gattung *Monas* schrieb er eine nebensächliche Bedeutung für die Fäulnis zu. Cohn's Anschauung stützte sich nur auf das stetige Vorkommen gewisser, alle andern Arten an Zahl weit

überwiegender Stäbchenbakterien in faulenden Flüssigkeiten. Den zwingenden Beweis durch den Versuch zu erbringen, war ihm nicht möglich, denn noch fehlte ein Verfahren zur Trennung und Reinzüchtung der Spaltpilzarten.

5 So kann es denn nicht Wunder nehmen, daß PASTEUR (1) in seinen schon im Jahre 1863 veröffentlichten Untersuchungen über die Fäulnis dem *Bacterium termo* eine ganz andere Rolle zuwies als COHN. Zwei Jahre zuvor hatte er zum ersten Male nachgewiesen, daß es Bakterien gebe, die nur bei völligem Abschluß des Sauerstoffes Gärung erregen, 10 und den *Vibrion butyrique* als den ersten Vertreter dieser von ihm als Anaerobe bezeichneten Pilzklasse beschrieben. Wenige Monate vor seiner Veröffentlichung über die Fäulnis folgten seine Beobachtungen über die anaerobe Gärung des weinsauren Kalkes. Schon befestigte sich in ihm die Anschauung, daß nur die Anaeroben Gärungserreger (*ferments zymiques*) 15 seien. So suchte er denn auch die Erreger der Fäulnis unter den Anaeroben. Seine Ansicht ging dahin, daß sie allein befähigt seien, Protein in einfachere, aber immer noch zusammengesetzte organische Verbindungen zu zerlegen. Dagegen fiele den sauerstoffliebenden Kleinlebewesen der Fäulnisflora, wie *Bacterium termo* und den Monaden, die Aufgabe zu, den 20 Sauerstoff zu verzehren, dadurch den Anaeroben das Leben zu ermöglichen und die von ihnen erzeugten Spaltungsstücke des Eiweißmoleküls zu den einfachsten Verbindungen der Elemente abzubauen. Sei also die Fäulnis nur bei Anwesenheit strenger Anaeroben möglich, so sei sie doch am vollkommensten bei gleichzeitiger Anwesenheit der Aeroben. 25 Einen strengen Beweis für seine Fäulnistheorie hat PASTEUR so wenig wie COHN erbracht. Auch unser Wissen über die Fäulnispilze hat er, dem morphologische Untersuchungen ja fern lagen, nicht bereichert, und mit souveräner Verachtung aller botanischen Systematik stellt er *Vibrio lineola* zu den Anaeroben, gleichzeitig aber *Bacterium* 30 *termo* zu den Aeroben. Dennoch ist er mit seiner Ansicht über die Arbeitsverteilung bei der Zersetzung der Proteine unter die Anaeroben und Aeroben den wirklichen Verhältnissen ziemlich nahe gekommen.

Eine Klarstellung der verschiedenen Anschauungen über die Bedeutung der in faulenden Flüssigkeiten lebenden Spaltpilze wurde erst 35 nach Einführung des Plattenverfahrens in die bakteriologische Technik möglich. Es war ROSENBACH (1), der zuerst im Jahre 1884 die Flora faulender Stoffe auf diese Weise analysierte. Er kam zu dem Ergebnis, daß die als *Bacterium termo* bezeichneten Stäbchenbakterien mehreren Arten angehörten. Er beschrieb deren drei unter den Namen *Bacillus* 40 *saprogenes I—III*. Doch ist seine Beschreibung so kurz gehalten, daß es schwer ist, zu erkennen, welche der jetzt genauer bekannten Arten er vor sich gehabt hat. Immerhin gebührt ihm das Verdienst, das *Bacterium termo* aus der bakteriologischen Systematik beseitigt zu haben. Wenn man auch jetzt noch zuweilen auf diese Bezeichnung stößt, so 45 kommt ihr nur noch der Charakter einer bequemen Umschreibung des Wortes „Fäulnisbakterien“ zu.

Ein Jahr später als ROSENBACH veröffentlichte HAUSER (1) eingehende Untersuchungen über die Spaltpilze in faulenden Stoffen. Er gewann drei nahe verwandte Arten in Reinzuchten. Nicht nur für die Lehre 50 von der Fäulnis, sondern auch für unsere Kenntnisse der allgemeinen Eigenschaften der Bakterien hat HAUSER's Arbeit Bedeutung gehabt. An seinen drei Fäulnispilzen legte er zum ersten Male mit Sicherheit dar, daß manche Spaltpilzarten einen weiten Formenkreis durch-

laufen, eine Eigentümlichkeit, um die gerade in jener Zeit ein heißer Streit der Meinungen tobte. Es zeugt von der Wichtigkeit, die HAUSER der Entdeckung der Wandelbarkeit der Zellformen dieser Pilze beilegte, daß er ihnen deshalb den Genusnamen *Proteus* gab. Eine kurze Kennzeichnung dieser in mehrfacher Beziehung interessanten Spaltpilze soll 5 in den folgenden Zeilen gegeben werden.

Die Zellen des *Proteus vulgaris* haben meist eine Länge von 0,9 bis 1,2 μ und eine Breite von 0,4—0,6 μ. Fast stets sind sie zu Paaren vereint. Neben diesen Kurzstäbchen kommen aber auch gestreckte Gestalten vor; recht häufig sind solche von 3,7 μ Länge. Ganz besonders 10 kräftige Zellen erreichen zuweilen eine Länge von 6 μ und darüber bei einer Breite von 0,9 μ. Die Fig. 4 auf Tafel II im Band I gibt davon Abbildungen. Die reiche Zahl von Geißeln läßt auf kräftige Eigenbewegung schließen. Diese Fähigkeit kommt den Proteusarten auch in hohem Maße zu und äußert sich nicht nur in einer schießenden Vorwärts- 15 bewegung, sondern zugleich auch in einer Drehung um die Längsachse. Stäbchenpaare beschreiben Doppelkegel, deren Scheitel an der Stelle des Zusammenhanges liegt. Einzig dastehend im gesamten Bakterienreiche ist *Proteus vulgaris* hinsichtlich der von ihm entwickelten Bewegungsgröße. Sie erreicht ein so hohes Maß, daß ein fester Nährboden, der 20 nur 5 Proz. Gelatine enthält, den Schwärmern keinen Widerstand zu leisten vermag; sie verbreiten sich darauf nach allen Seiten. Will man dieser Schwärmung vorbeugen, so muß man den Gelatinezusatz auf 10 Proz. erhöhen. Außer den bisher genannten Zellgestalten findet man in Zuchten auf Nährgelatine auch Spirillen von 2—4 Windungen, dann Fadenzellen, 25 deren Länge bis zu 100 μ anwachsen kann, und endlich Spirulinen, also Fäden, die zu einer Schleife gebogen und deren beide Hälften dann zopfartig verflochten sind. Unter besonderen Umständen kommt es zur Bildung von Involutionsformen; die Zellen schwellen birnähnlich auf, und es entstehen so Gebilde, die entweder an Spermatozoen oder an 30 Hanteln u. dgl. m. erinnern.

In noch höherem Maße hat die zweite von HAUSER beschriebene Art, *Proteus mirabilis*, die Eigenschaft, solche Involutionsformen zu bilden. Sonst ähnelt sie *Proteus vulgaris* sehr, ebenso die dritte Art, *Proteus Zenkeri*, die sich von den anderen durch die etwas geringeren Aus- 35 maße ihrer Zellen und die Unfähigkeit, Gelatine zu verflüssigen, unterscheidet.

Spätere Untersuchungen haben HAUSER (2) zu der Anschauung geführt, daß seine drei Fäulnispilze nicht scharf trennbare Spezies, sondern Rassen einer Art, des *Proteus vulgaris*, darstellen, die leicht in einander 40 übergehen. Dagegen bemerkt CZAPLEWSKI (1) in einer Anmerkung zu einer Arbeit von MOUGINET über einige Fäulnisbakterien, daß nach seinen Untersuchungen *Proteus Zenkeri* mit einem anderen, von KURTH (1) aus dem Darminhalt von Hühnern gezüchteten Fäulnispilz, dem *Bacterium Zopfii*, identisch sei. Dieses ist auch von KUHN (1) bei der Leichenfäulnis 45 stets aufgefunden worden.

Proteus vulgaris hat im Laufe der Zeiten seinen Namen verschiedentlich geändert. In den neueren mykologischen Werken heißt er bald *Bacillus proteus vulgaris*, bald *Bacillus vulgaris* oder *Bacterium vulgare*. Letztere Bezeichnung wird auch hier in der Folge benutzt werden. *Bacterium vulgare* 50 tritt in der Natur überall da auf, wo organische Stoffe der Fäulnis verfallen. Endosporen hat man bei ihm nicht nachweisen können. Doch ist es außerordentlich unempfindlich gegen die verschiedensten physikalischen

und chemischen Einwirkungen. In rein mineralischen Nährlösungen findet es zwar kein Fortkommen, doch ist es nach C. FRÄNKEL (1) auf Eiweißstoffe für seine Ernährung nicht angewiesen. Sehr mannigfaltig sind seine chemischen Leistungen. Es zersetzt nicht nur Proteinstoffe, 5 worüber später mehr gesagt werden soll, sondern vergärt auch Glucose, Saccharose und Lactose zu organischen Säuren. Bei der Gärung der erstgenannten zwei Zucker entstehen, wie zuerst LIBORIUS (1) feststellte, Gase und zwar nach den Untersuchungen von TH. SMITH (1) und L. H. und E. PAMMEL (1) ein Gemisch von Kohlensäure und Wasserstoff. Als 10 Gärungssäuren führen GAILLARD Essigsäure und BIENSTOCK (1) Bernsteinsäure an. Doch haben TISSIER und MARTELLY (1), TISSIER und GASCHING (1), sowie WEBER (1) auch Stämme beobachtet, die Zucker überhaupt nicht oder nur Glucose und Saccharose, nicht aber Lactose vergoren. Dieses abweichende Verhalten der verschiedenen Stämme des 15 Pilzes ist ein Ausdruck seiner großen Neigung zur Variation. Das Verhalten der verschiedenen Rassen gegen die Zuckerarten ändert sich, wie WEBER (1) festgestellt hat, bei längerer Züchtung auf den Laboratoriumsnährböden in starkem Maße. Es sei, um das Bild des Gärvermögens des Pilzes zu vervollständigen, erwähnt, daß er nach den Unter- 20 suchungen von BRODMEIER (1), sowie von TISSIER und MARTELLY (1) auch Harnstoff vergärt. An Enzymen scheidet er nach FERMI und MONTESANO (1) Invertase, nach TISSIER und MARTELLY (1) Lab, Lipase und Trypsin ab. Auch in der pathologischen Mykologie spielt *Bacterium vulgare* eine wichtige Rolle. Darüber findet man einige kurze Angaben in einem der 25 folgenden Paragraphen. Wer sich über die umfangreiche Literatur, die sich mit diesem Pilz befaßt hat, unterrichten will, sei auf die von MEYERHOF (1) gegebene Zusammenstellung verwiesen.

Nahe Verwandte (vielleicht auch nur Rassen) des *Bacterium vulgare* sind vermutlich der von HOLSCHEWNIKOFF (1) beschriebene, sich durch 30 besonders starke Schwefelwasserstoffbildung auszeichnende *Proteus sulfureus*, sowie ein von JÄGER (1) aus faulem Wasser erhaltener Spaltpilz, der in seinen Zuchten einen grün fluoreszierenden Farbstoff erzeugt.

In welchem Maße die Fähigkeit zur Variation bei den Bakterien der Proteusgruppe ausgebildet ist, hat sich erst in neuerer Zeit ergeben, 35 seitdem man in dem später zu besprechenden Agglutinationsphänomen ein differentialdiagnostisches Hilfsmittel hat, das gestattet, auch Unterschiede im chemischen Bau der Bakterienzellen mit Sicherheit nachzuweisen. Die von PFAUNDLER (1) und S. WOLF (1) in dieser Richtung angestellten Untersuchungen haben ergeben, daß auch mit den üblichen 40 Mitteln nicht mehr unterscheidbare pathogene Stämme ein verschiedenes Verhalten bei der Agglutination zeigen und dieses auch längere Zeit bei weiterer Züchtung auf künstlichen Nährböden bewahren.

§ 22. Einige farbstoffbildende Fäulnisbakterien.
(B. prodigiosum, B. fluorescens liquefaciens, B. pyocyaneum.)

45 Ein häufiger Bewohner faulender Stoffe ist das schon wiederholt erwähnte Pigmentbakterium, *Bacterium prodigiosum*. Es spielt nicht nur in der Geschichte der Bakterienlehre eine Rolle, da an ihm manche Fragen von allgemeiner Bedeutung geprüft worden sind, sondern auch in der Kulturgeschichte der Völker. Das „Wunderblut" an den Hostien 50 im Mittelalter war sicherlich nichts weiter als die blutroten Zooglöen

dieses Spaltpilzes: religiöser Wahn hat ihm Hekatomben von Menschen geopfert. Gelegentlich eines solchen Wunders, das im Jahre 1819 die ganze Provinz Padua in Schrecken versetzte, da wochenlang auf den verschiedensten Speisen blutrote Flecken auftraten, erkannte der italienische Arzt SETTE (1), daß diese belebt seien und daß man durch Übertragung kleiner Mengen auch gesunde Nahrungsmittel „blutig" machen könne. Bei einer Prodigiosus-Epidemie in Berlin im Jahre 1848 entdeckte dann CH. EHRENBERG, daß die „Blutstropfen" sich aus ovalrundlichen Zellen von 0,5—1,0 μ Länge zusammensetzen. Wegen ihrer Gestalt und der an ihnen zuweilen wahrgenommenen Bewegungszustände, reihte EHRENBERG den Pilz in das Genus *Monas* als neue Art, *Monas prodigiosa*, ein. COHN hat diesen Namen dann in *Micrococcus prodigiosus* umgewandelt, während man jetzt meist, dem Beispiele FLÜGGE's folgend, den Pilz zu den Stäbchenbakterien zählt und ihn daher als *Bacterium prodigiosum* oder *Bacillus prodigiosus* bezeichnet. Betreffs der Gestalt seiner Zellen zeigt *Bacterium prodigiosum* wie *Bacterium vulgare* einen ziemlich großen Formenreichtum. Auf den üblichen schwach alkalischen Nährböden bildet es sehr kurze, fast sich der Kokkenform nähernde Stäbchen, in schwach sauren Lösungen — 0,3—0,4 g Weinsäure im Liter — nach den Untersuchungen von WASSERZUG (1) dagegen langgestreckte Stäbchen und Fäden. Doch treten bei Ueberimpfung von Zuchten, die längere Zeit in sauren Nährböden geführt worden sind, auf solche von alkalischer Reaktion sofort wieder die kurzen Formen auf. In jungen Zuchten zeigt der Pilz lebhafte Schwärmzustände, wie SCHOTTELIUS (1) nachwies. Eine Abbildung seiner Schwärmer gibt Fig. 3 von Taf. II in Bd. I. Die Gelatine wird von *Bacterium prodigiosum* verflüssigt. In üppigen roten Zooglöen wächst es auf gekochten Nahrungsmitteln aller Art und macht sich in den heißen Sommermonaten dadurch oft sehr unliebsam bemerkbar. Auf Kartoffeln erzeugt es einen deutlichen Geruch nach Trimethylamin und Ammoniak. Zucker vergärt es, nach den Untersuchungen von LIBORIUS (1), SCHEURLEN (1), FERMI und MONTESANO (1), sowie BIENSTOCK (1) zu Ameisensäure und Bernsteinsäure. LIBORIUS und SCHOTTELIUS beobachteten in seinen Zuchten auch Gasbildung, RITTER (1) bestreitet sie. Vermutlich sind beide Angaben richtig, denn sowohl das Gärungs- wie auch das Peptonisierungsvermögen des Pilzes sind nach BEIJERINCK's (1) Angaben sehr der Variation unterworfen. Die Abweichungen der Rassen, die aus lange auf den Laboratoriumsnährböden gezüchteten Kulturen entstehen, sind so groß und beständig, daß man sie ohne Kenntnis ihrer Vorgeschichte für gut charakterisierte Arten halten würde. Auch das von K. B. LEHMANN und A. NEUMANN festgestellte Vermögen des Pilzes, Harnstoff zu vergären, ist nach Beobachtungen von MANN (1) anscheinend sehr variabel. *Bacterium prodigiosum* erzeugt nach GORINI (1) auch Lab. Das Casein der Milch koaguliert es, doch spielt hierbei neben dem Lab wohl auch die aus der Lactose gebildete Säure eine Rolle. LEVY und PFERSDORFF (1) haben auch in den getrockneten Bakterienzellen Lab und Invertase nachweisen können. Ueber den Farbstoff des *Bacterium prodigiosum* und den Einfluß der Lebensbedingungen auf seine Bildung findet man im 12. und 13. Kapitel des I. Bandes nähere Angaben. Nach den Untersuchungen von MARX (1) und BERTARELLI (1) erzeugt der Pilz ein ziemlich starkes intrazellulares Gift und wirkt in größeren Mengen in den Tierkörper einverleibt toxisch und auch infektiös.

Dem *Bacterium prodigiosum* nahe verwandt, vielleicht auch identisch mit ihm, ist das von Breunig in der Kieler Bucht gefundene *Bacterium kiliense* und ein von Auché (1) und du Bois Saint-Serrin (1) studierter Spaltpilz, der auf faulenden Fischen vorkommt und zuweilen die Rot-
5 färbung der Sardinen veranlaßt. Er unterscheidet sich von *Bacterium prodigiosum* dadurch, daß er auch bei 37—39 °, dieses nur bei niederer Temperatur Pigment bildet. Eine andere rote Art ist der von Eidam (1) in faulendem Hühnereiweiß gefundene *Bacillus erythrosporus*, bei dem der Farbstoff seinen Sitz in den Endosporen hat.

10 Noch ein anderes Pigmentbakterium findet man häufig in faulenden Stoffen. Es ist dies *Bacterium (Bacillus) fluorescens liquefaciens*, das seinen Namen deshalb führt, weil es auf den Laboratoriumsnährböden einen grünen fluoreszierenden Farbstoff bildet und Gelatine verflüssigt. Es ist in der Natur weit verbreitet, ein ständiger Bewohner der Wässer und
15 des Bodens. Auch in Thermalquellen hat es Wittlin (1) als den einzigen Vertreter bakteriellen Lebens wiederholt gefunden, andererseits Schmelk (1) im Wasser norwegischer Gletscher. Zuweilen verirrt es sich in die Normallösungen (Titerflüssigkeiten) der Chemiker und kann, wie eine Beobachtung Beck's (1) zeigt, den Titer verändern. Es wächst
20 in schlanken Stäbchen und längeren Fäden von 0,4 μ Breite und 1,4 bis 6,0 μ Länge. Die Stäbchen besitzen eine polare Geißel. Endosporen hat man niemals gefunden. Das Milchcasein peptonisiert der Pilz ohne es vorher zu fällen. Zucker verändert er nicht. Er wächst nur bei reichlicher Luftzufuhr. Nach Emmerling und Reiser (1) vergärt er
25 Harnstoff. Fermi und Montesano (1) haben in seinen Zuchten Invertase nachgewiesen.

Ihm außerordentlich ähnlich ist ein anderer Spaltpilz, das in grünem Eiter von Gessard (1) entdeckte *Bacterium pyocyaneum* (*Bacillus pyocyaneus*), das im Gegensatz zu dem harmlosen *Bacterium fluorescens lique-*
30 *faciens* zuweilen auch als Krankheitserreger auftritt. Es kommt auch im Boden, im Wasser und Mist vor, ist aber doch bisher seltener als das letztgenannte gefunden worden. Von diesem unterscheidet es sich dadurch, daß es neben dem gelbgrünen Pigment noch ein blaues, das Pyocyanin, bildet. Auch gedeiht es besser bei 37 °, jenes bei Zimmertemperatur.
35 Ferner koaguliert es das Milchcasein vor der Peptonisierung. Doch hat Růžička (1) auch Stämme mit den Eigenschaften des *Bacterium fluorescens liquefaciens* gefunden, die Pyocyanin bildeten. Umgekehrt haben Jordan (1) und Sullivan (1) nachgewiesen, daß man durch geeignete Ernährung *Bacterium pyocyaneum* zwingen kann, nur eins der
40 beiden Pigmente zu bilden; doch ist es ihnen nicht gelungen, auf diese Weise *Bacterium fluorescens liquefaciens* zur Erzeugung von Pyocyanin zu veranlassen. Dagegen gewöhnen sich nach den Untersuchungen Růžička's manche Stämme des *Bacterium fluorescens liquefaciens* durch längere Züchtung bei 37 ° an diese Temperatur und bilden dann einen mehr bläulichen
45 Farbstoff, während *Bacterium pyocyaneum* bei längerem Aufenthalt in stark gelüftetem Wasser die Fähigkeit Pyocyanin zu erzeugen bis zu einem gewissen Grade einbüßt. Man geht daher vielleicht mit der Annahme nicht fehl, daß *Bacterium pyocyaneum* eine pathogene Rasse des *Bacterium fluorescens liquefaciens* ist, die sich den andersartigen Lebens-
50 bedingungen angepaßt hat.

Man findet in der Literatur noch eine ganze Reihe von Spaltpilzarten, die einen grünen fluoreszierenden Farbstoff bilden und Gelatine verflüssigen. Sie sind vermutlich größtenteils Rassen der beiden hier be-

schriebenen Arten. ERMINIO NIEDERKORN (1) hat einige von ihnen eingehender auf ihre Verwandtschaft untersucht.

Ueber die Farbstoffe dieser Bakterien findet man das Wissenswerte im § 69 des 12. Kapitels des I. Bandes zusammengestellt angegeben.

§ 23. Bacterium coli commune und die Darmfäulnis.

Von den bei Anwesenheit von Sauerstoff wachsenden Fäulnisbakterien muß hier noch einer Spezies etwas eingehender gedacht werden. Es ist dies *Bacterium coli commune*, ein Spaltpilz, der in faulenden Stoffen häufig, stets aber im Darmkanal des Menschen und aller daraufhin bisher untersuchten Tiere gefunden worden ist und im Kot alle anderen Pilze an Zahl bei weitem überwiegt. ESCHERICH (1) hat es, nachdem sein Vorkommen im Darm schon von EMMERICH (1) beobachtet worden war, zuerst genauer untersucht und beschrieben. Es ist ein schlankes Stäbchen von 0.4 μ Breite, dessen Länge je nach den Ernährungs- und Züchtungsbedingungen schwankt, meist 2—3 μ beträgt, aber auch bis auf 0.5 μ zurückgehen kann. Meist tritt es in zweistäbigen Verbänden auf; zuweilen sieht man in Gelatinekulturen auch bis zu 6 μ lange Zellfäden. Seine Schwärmbewegungen sind ziemlich schwerfällig. Endogene Sporen hat man bisher bei ihm nicht beobachtet. Die Nährgelatine wird von ihm nicht verflüssigt. In peptonhaltigen Lösungen erzeugt es Ammoniak und Indol (vgl. S. 106). Glucose, Saccharose, Lactose vergärt es unter kräftiger Gasentwicklung zu organischen Säuren und wächst bei ihrer Gegenwart auch unter Abschluß der Luft. Die Fähigkeit, Lactose zu vergären, fehlt aber manchen Stämmen. Das Gärungsgas besteht nach den Untersuchungen von FREMLIN (1), TH. SMITH (2), CHANTEMESSE und WIDAL (1), LEMBCKE (1), L. H. und E. PAMMEL (1) aus Wasserstoff und Kohlensäure. Das Mengenverhältnis beider schwankt bei den einzelnen Stämmen und nach den Ernährungsbedingungen auch bei demselben Stamme sehr. In Betreff der durch diesen Spaltpilz gebildeten Säuren sei auf das 6. Kapitel des II. Bandes verwiesen. *Bacterium coli* ist der wichtigste Vertreter einer sehr artenreichen Gruppe von Spaltpilzen, die sich morphologisch und physiologisch nur wenig unterscheiden und durch ihre ausgesprochene Neigung zur Variation die Differentialdiagnose noch erschweren. BEIJERINCK (2) hat sie in eine natürliche Gattung *Aerobacter* zusammengestellt, zu der auch *Bacterium lactis aerogenes* (*A. aerogenes*) gehört. Er unterscheidet deren Arten nach ihrem Wachstum auf festen Nährböden und ihrem Gärvermögen. Alle mit Ausnahme des *Aerobacter coli* (*Bacterium coli*) spalten Indican in Glucose und Indoxyl, das sich an der Luft zu Indigo oxydiert. Dagegen stellt BEIJERINCK in die Gattung *Aerobacter* nicht eine nach Ansicht der meisten anderen Bakteriologen dem *Bacterium coli* nah verwandte Spezies, nämlich den Erreger des Unterleibstyphus, *Bacterium typhi*. Die Aehnlichkeit beider ist so groß, daß es eine der undankbarsten Aufgaben der pathologischen Mykologie ist, sie nebeneinander im Wasser nachzuweisen. Andere Verwandte des *Bacterium coli* sind die sog. Paratyphusbakterien (*Bacterium paratyphosum*) zu denen die im § 29 zu besprechenden Bakterien der Fleischvergiftungen gehören, ferner das von LOEFFLER (1) entdeckte *Bacterium typhi murium*, das sich zur Bekämpfung der Feld- und Hausmäuse, da es für andere Tiere und den Menschen nicht pathogen ist, sehr eignet und vielfach mit Erfolg angewendet worden ist. Auch im

Molkereibetriebe, bei der Teiggärung und vielen anderen Vorgängen der Gärungsgewerbe spielen die „Colibakterien“, wie man sie häufig gemeinsam bezeichnet, eine Rolle. Eine sichere Unterscheidung der vielen Arten und Rassen ist häufig nur mittels des Agglutinationsphänomens möglich. Untersuchungen in dieser Richtung sind insbesondere von Pfaundler (1), Rothberger (1) und Totsuka (1) ausgeführt worden.

Wer sich über die kaum übersehbare Literatur über diesen Pilz unterrichten will, sei auf die Zusammenstellungen von Ide (1), Kiessling (1), Radzievski (1) ferner auf die Monographie von Escherich und Pfaundler im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann aufmerksam gemacht. Dort findet man auch eingehende Angaben über die pathogenen Rassen des Pilzes, deren hier sonst keine Erwähnung geschehen kann.

Dagegen muß hier noch Einiges über die Rolle gesagt werden, die das im Darm stets vorhandene *Bacterium coli* bei den dort verlaufenden Zersetzungen spielt. Die Forschungsergebnisse der letzten Jahre machen es sehr wahrscheinlich, daß es die Aufgabe hat, die **Darmfäulnis** innerhalb der dem Körper unschädlichen Grenzen zu halten und die Entwicklung schädlicher Bakterien zu verhindern. Fäulnis findet nur in den als Dick- und Mastdarm bezeichneten Teilen des Darmes statt. Der aus dem Magen in den Dünndarm gelangende Speisebrei hat eine schwach saure Reaktion und enthält große Mengen gärfähiger Zuckerarten, die durch die Milchsäurebakterien — nach den Untersuchungen Escherich's das *Bacterium lactis aerogenes* — zum Teil vergoren werden, so daß der Dünndarminhalt stets stark sauer ist. In dem Maße, wie sich der Speisebrei dem unteren Ende des Dünndarmes nähert, nimmt seine saure Reaktion infolge der Neutralisierung durch den alkalischen Darmsaft ab, während gleichzeitig der größte Teil der Nahrungsstoffe gelöst und resorbiert wird. Beim Eintritt in den Dickdarm ist der Speisebrei neutral. Er enthält, wie Macfadyen, M. Nencki und Sieber (1), denen wir die Kenntnis dieser Vorgänge vorwiegend verdanken, festgestellt haben, noch ein Siebentel des für den Körper verwertbaren Nahrungsproteins, das nun der Fäulnis verfällt und dem Körper dadurch entzogen wird. Mit dem Eintritt des Speisebreies in den Dickdarm steigt die bis dahin geringe Zahl der in ihm enthaltenen Bakterien ins Ungeheure und zwar besteht diese Flora fast ausschließlich aus *Bacterium coli commune*. Es überwiegt von da ab in den Speiseresten bis zu ihrem Austritt aus dem Körper. Das plötzliche Ueberhandnehmen dieses Pilzes ist nicht etwa auf schnelle Vermehrung seiner mit der Nahrung aufgenommenen Vertreter zurückzuführen, denn auch bei Ernährung mit sterilisierter Nahrung tritt es ein, wie Ballner (1) feststellte. Man muß vielmehr annehmen, daß er seinen ständigen Aufenthalt im Darm hat, und zwar, wie Kohlbrugge (1), Rahner (1) und Ballner nachgewiesen haben, in dem sog. Blinddarm, zu dessen Schleimhautzellen er in einer Art symbiotischen Verhältnisses steht. Für die von Escherich schon vermuteten engeren Beziehungen zwischen *Bacterium coli commune* und dem Körper spricht auch die Beobachtung von H. Smith (1) und Kreisel (1), daß das Serum eines Individuums die Colibakterien des eigenen Darmes agglutiniert, nicht aber oder nur in geringerem Grade die Bakterien anderer Individuen. Man nennt daher *Bacterium coli commune* das obligate oder körpereigene Darmbakterium im Gegensatz zu den aus der Nahrung stammenden „wilden“ Bakterien. Zu ihnen gehören auch die proteinzersetzenden sporenbildenden luftliebenden und

luftscheuen Arten. Gewinnen sie einmal die Oberhand, so ist nach den Beobachtungen von Rodella (1) und Klein (1) die Folge stets eine schwere oft tödliche Entzündung des Darmes. Darüber, wie *Bacterium coli commune* die Lebenstätigkeit dieser Pilze vermutlich hemmt, wird weiter unten Einiges mitgeteilt werden. Weitere Angaben über die 5 Darmfäulnis findet man im 22. Kapitel des II. Bandes. Wer einen tieferen Einblick in die für die Physiologie der Ernährung so wichtigen biologischen Vorgänge im Darm gewinnen will, dem seien als Wegweiser durch die reiche Literatur die Zusammenstellungen von Escherich (2) über die älteren, von Kohlbrugge (1) über die seit 1887 veröffentlichten Arbeiten 10 empfohlen.

Es können hier nicht alle bei der Fäulnis sonst noch vorkommenden Sauerstoff liebenden Pilzarten aufgezählt werden, zumal man über ihren Anteil am Fäulnisvorgange bisher wenig weiß. Erwähnt sei nur, daß neben den Stäbchenbakterien auch besonders im Anfange der Fäulnis 15 Vertreter der Coccaceen stets gefunden werden, so der in der Natur ziemlich häufige *Micrococcus flavus* (Flügge) Lehm. und Neum. und die als die Erreger von Eiterungen bekannten, weit verbreiteten *Micrococcus (Staphylococcus) pyogenes* (Rosenbach) Lehm. und Neum. und *Streptococcus pyogenes* Rosenbach. Auch die schon an anderer Stelle dieses Hand- 20 buches beschriebenen kochfesten Bakterien, wie *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus* und andere verwandte Arten, sind bei der Fäulnis oft beteiligt.

§ 24. Die luftscheuen Fäulnisbakterien. Sonderung der Fäulniserreger in zwei Gruppen. Einfluß des Nährbodens auf die 25 Fäulnisflora.

Die technischen Schwierigkeiten, die die Reinzüchtung der strengen Anaeroben selbst jetzt noch bietet, sind wohl die Ursache gewesen, weshalb die Untersuchung der in faulenden Stoffen lebenden luftscheuen Pilze anfangs etwas vernachlässigt worden ist, so daß wir unsere Kennt- 30 nisse über sie vorwiegend neueren Arbeiten verdanken. Zwar hatte Pasteur schon im Jahre 1877 mitgeteilt, daß der von ihm in faulenden Flüssigkeiten entdeckte, pathogene *Vibrion septique* Proteinstoffe zersetze. Koch und Gaffky haben diesen Pilz dann eingehender untersucht und *Bacillus oedematis maligni* genannt. Aber erst Liborius (1) hat ihn im 35 Jahre 1886 in Reinzucht auf festem Nährboden gewonnen. Nach den Angaben Beijerinck's (2, 3), der ihn *Proteobacter septicum* nennt, ist er ein häufiger Bewohner faulender Stoffe. Liborius hat gleichzeitig noch eine andere anaerobe Spezies rein gezüchtet, die er wegen der Form ihrer Sporangien und des von ihr in eiweißhaltigen Nährböden erzeugten 40 Fäulnisgestankes *Clostridium foetidum* nannte. Nencki und seine Schüler haben einige Jahre später durch eingehende chemische Untersuchungen festgestellt, daß diese Pilze die Proteinstoffe in hohem Grade zersetzen. Ebenso taten dies einige von Lüderitz (1) aus Boden gezüchtete Anaerobe und der von Bollinger und Eser entdeckte, aber erst von Kitasato 45 (3) auf festen Nährböden reingezüchtete Erreger des Rauschbrandes, *Bacillus Chauvoei*. Weil diese Pilze in der Natur anscheinend weit verbreitet sind, so ist es möglich, daß sie auch bei der spontanen Fäulnis beteiligt sind. Sanfelice (1), der im Jahre 1893 neun anaerobe Arten aus faulenden Infusen züchtete, glaubt, daß eine Anzahl von ihnen mit 50

den von Liborius und Lüderitz beschriebenen identisch sei. Doch sind seine Beschreibungen zu kurz, und es fehlen besonders alle Angaben darüber, welche Bedeutung diese Pilze für die Fäulnis haben. Erst im Jahre 1899 und in den folgenden Jahren haben Bienstock, Beijerinck, Tissier und Martelly u. a. planmäßige Untersuchungen der in faulenden Stoffen lebenden Anaeroben begonnen, so daß wir jetzt eine Reihe ziemlich gut charakterisierter Arten kennen.

Der wichtigste dieser anaeroben Fäulnispilze ist der von Bienstock (1. 2) im Jahre 1899 entdeckte *Bacillus putrificus*. Bienstock (3) hatte ihn schon im Jahre 1884 bei seinen Untersuchungen über die Flora des Darmes im Kote gefunden, ihn damals aber mit einer aeroben Art in Mischkultur vor sich gehabt und ihn daher als Aeroben beschrieben. Er ist in Erde, faulendem Dünger, Kloakenjauche stets anzutreffen. Tissier (1) hat ihn auch im Mekonium, Klein (2) stets im Dickdarm gefunden; auch einer der von Rodella (1) im Kote Neugeborener stets nachgewiesenen streng anaeroben Pilze ist vielleicht mit ihm identisch. Meist ein harmloser Saprophyt, scheint er nach Tavel's (1) Beobachtungen gelegentlich auch bei der Erzeugung von Abscessen im Darm neben anderen Bakterien beteiligt zu sein. Tissier und Martelly (1) fanden ihn stets bei der Fäulnis des Fleisches. Nach Klein ist er der wichtigste Erreger der Leichenfäulnis. Identisch mit ihm ist höchstwahrscheinlich eine von Beijerinck (1) bei der Fäulnis stets beobachtete Art, die er *Proteobacter skatol* nennt und für die wichtigste Fäulnisbakterie hält. *Bacillus putrificus* wächst in 5—6 μ langen, 0,8 μ breiten, schlanken Stäbchen mit vielen, peritrich angeordneten, langen Geißeln; in Flüssigkeiten entstehen auch sehr lange Zellfäden. Bei 30—40° bildet er ovale Endosporen, die in den Sporangien so angeordnet sind, daß sogen. Trommelschlägel entstehen (vgl. die *Fig. 18*). Sie können ohne Schädigung drei Minuten lang in kochendem Wasser verweilen. Der Pilz wächst in zuckerhaltigen und zuckerfreien Nährböden bei völligem Luftabschluß unter starker Gasentwicklung. Gelatine verwandelt er in eine faulig riechende Flüssigkeit. Zucker vergärt er nicht, dagegen Harnstoff. Er scheidet ein sehr kräftig wirkendes tryptisches Enzym ab, das Proteinstoffe bis zu Aminen abbaut. Doch kommen auch Stämme mit sehr schwacher proteolytischer Fähigkeit vor. Beijerinck (3) betont, daß sein *Proteobacter skatol* große Neigung zur Variation habe; er bezeichnet seine Rassen als „Skatolbakterien".

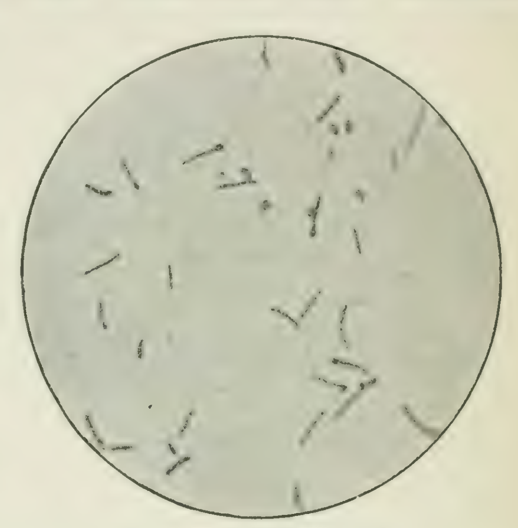


Fig. 18. Bacillus putrificus.
Stäbchen, Sporangien (Trommelschlägel) und Sporen aus alter Traubenzuckeragar-Stichzucht.
Vergr. 1000. Nach Bienstock.

Nicht so ständig aber doch sehr häufig haben Tissier und Mar-

TELLY in faulendem Fleisch noch drei andere streng anaerobe Stäbchenbakterien gefunden. Es sind dies der von FRÄNKEL aus gashaltigen Geschwüren, später auch aus Kadavern gezüchtete *Bacillus perfringens* und zwei früher anscheinend noch nicht beschriebene Arten, die von ihren Entdeckern die Namen *Bacillus bifermentans sporogenes* und *Bacillus gracilis putidus* erhalten haben. Letzterer wirkt auf Zucker nicht ein, während die anderen nur in zuckerhaltigen Nährböden gut gedeihen. *Bacillus bifermentans sporogenes* vergärt Glucose, *Bacillus perfringens* auch Lactose. Sie alle scheiden Trypsin und Lipase ab und vergären Harnstoff. *Bacillus perfringens* bildet auch Diastase. *Bacillus gracilis putidus* gehört zu den sporenlosen Bakterien, während die anderen fähig sind, Endosporen zu bilden, welche die Siedehitze kurze Zeit zu überleben vermögen. BEIJERINCK (2, 3) erwähnt noch eine zuweilen bei der Fäulnis auftretende sporogene, nicht schwärmfähige Stäbchenart, *Proteobacter pseudopulcher*, über deren Beziehungen zu anderen aber nichts Sicheres bekannt ist. Auch eine streng anaerobe Kokken-Art haben TISSIER und MARTELLY (1) bei der Fleischfäulnis beobachtet und als *Diplococcus magnus anaerobius* beschrieben. Sie erzeugt große Mengen basischer Stoffe, so daß ihre Zuchten stark alkalisch reagieren; dagegen verändert sie Zucker nicht.

Welche Rolle spielen nun alle diese Pilze bei der Fäulnis? Untersucht man ihr Verhalten gegen Proteinstoffe, so kann man sie in **zwei Gruppen** ordnen. Die erste Gruppe wird von den eigentlichen Fäulniserregern gebildet, die die natürlichen Proteine zersetzen. In sie gehören alle oben genannten strengen Anaeroben außer *Diplococcus magnus anaerobius*, von den Aeroben *Bacterium vulgare*, *Bacterium fluorescens liquefaciens*, *Micrococcus pyogenes* und viele der sporogenen Stäbchenbakterien des Bodens, wie *Bacillus mesentericus vulgatus*, *Bacillus ramosus* u. a., auch der von MAASSEN (1) beschriebene *Bacillus praepollens*, der sich durch die Fähigkeit, Fruchtester zu bilden, auszeichnet. Die zweite Gruppe besteht aus solchen Bakterienarten, welche zwar die ersten, noch proteinartigen Spaltungsstoffe der Proteine, wie z. B. die Albumosen und die Peptone, nicht aber die Proteine selbst zu zerlegen vermögen; ihnen fehlt das tryptische Ectoenzym. Zu dieser Gruppe gehört von den strengen Anaeroben nur *Diplococcus magnus anaerobius*, von den Aeroben *Bacterium coli*, *Bacterium prodigiosum*, *Micrococcus flavus*, vielleicht auch *Streptococcus pyogenes*, der nach EMMERLING's (1) Angaben allerdings auch Fibrin zersetzen soll. Auch gibt TAYLOR (1) an, daß *Bacterium coli* das Casein in lösliche Eiweißstoffe überführe. TISSIER und MARTELLY bezeichnen die Bakterien der ersten Gruppe als proteolytische, die der zweiten als peptolytische. Wie weit die Zersetzung der Proteine und ihrer Spaltungsstoffe durch die verschiedenen Pilze geht, wird im folgenden Paragraphen mitgeteilt werden.

Die Fäulnisbakterien sind in der Natur weit verbreitet, und es hängt ganz von den jeweiligen Verhältnissen ab, welche von ihnen bei der Fäulnis die Oberhand gewinnen. Da diese in der Natur meist unter Umständen verläuft, die den strengen Anaeroben die Entwicklung gestatten, so findet man in faulenden Stoffen zu gewissen Zeiten stets Vertreter dieser Pilze, und zwar fehlt anscheinend *Bacillus putrificus* nie, während sich die anderen Arten jeweilig vertreten. Die Anaeroben, besonders *Bacillus putrificus*, zersetzen nach den Beobachtungen TISSIER's und MARTELLY's die Proteine viel schneller und eingreifender, als die Aeroben dies tun, und ihnen dürfte daher beim Abbau dieser Stoffe die

Hauptrolle zufallen. Die Aufgabe der Aeroben wird wesentlich darin bestehen, die Entwicklung der Anaeroben möglichst zu begünstigen, indem sie den Sauerstoff verzehren und die hochmolekularen Spaltungserzeugnisse der anaeroben Fäulnis zu den einfachsten unorganischen Verbindungen abbauen. Nur an Orten, an denen die Luft reichlich zutreten kann, wie an der Oberfläche faulender Stoffe, im gut bearbeiteten Ackerboden (s. das 17. Kap.), in den Oxydationsfiltern der biologischen Kläranlagen (s. das 14. Kap.), in der Gerberei beim sogen. Abschwitzen der Haare von den Häuten (s. 2. Kap. des V. Bds.) usf., werden die aeroben Fäulnispilze vorwiegend die Zersetzung der Proteinstoffe zu besorgen haben, wenn auch, wie der reiche Gehalt des Bodens an strengen Anaeroben zeigt, diese hier sicherlich ebenfalls tätig sind. Ist also die Theorie Pasteur's, daß nur die strengen Anaeroben Gärungserreger seien, bei der Fäulnis so wenig bestätigt worden wie bei den anderen Gärungen, so haben sich doch seine Anschauungen über die Arbeitsleistungen der Anaeroben und Aeroben bei der Proteingärung im wesentlichen als richtig erwiesen.

Auch von der chemischen Zusammensetzung des Nährbodens hängt in hohem Grade die Art der sich entwickelnden Fäulnisflora ab. Stoffe tierischer und pflanzlicher Herkunft enthalten neben Proteinen meist wechselnde Mengen von Fetten und Zucker. Die Fette haben nach den Untersuchungen von Winternitz (1) und Hirschler (1) keinen Einfluß auf die Fäulnis, dagegen wirken die **Zuckerarten** bestimmend auf die Zusammensetzung der Fäulnisflora und den Verlauf des Abbaues. Bei ihrer Anwesenheit entwickeln sich zunächst diejenigen Fäulnisbakterien, die auch Zucker vergären, wie *Bacterium vulgare*, *Bacterium coli*, *Bacillus perfringens*, *Bacillus bifermentans sporogenes*, zuweilen auch die die Proteine nur unerheblich angreifenden Milchsäurebakterien. In solchen Fällen erfolgen die Vergärung der Zucker zu Säuren und die Zersetzung der Proteine gleichzeitig, doch überwiegt erstere und letztere wird sehr verlangsamt. Ist die Zuckermenge so groß, daß bei ihrer Vergärung ein gewisser Säuregrad erreicht wird, so wird die weitere Entwicklung der Fäulnispilze und damit die tiefere Zersetzung des Proteins verhindert, falls nicht unter natürlichen Verhältnissen die Gärungssäuren durch höhere Pilze wieder zerstört werden, wie dies bei Luftzutritt meist der Fall sein wird. Ist sie nur gering, so ist die Zersetzung des Proteins zunächst eine weniger tiefe. Nach den Untersuchungen von Simnitzki (1) entstehen in solchen Fällen Indol, Phenol, Mercaptan überhaupt nicht, und auch Schwefelwasserstoff und Ammoniak werden in erheblich geringeren Mengen gebildet, so daß bei der gleichzeitigen starken Säurebildung aus den Zuckern eine nicht genügende Neutralisierung stattfindet. Bei längerer Dauer der Fäulnis überwiegen aber in diesen Fällen die alkalischen Produkte, die säureempfindlichen Fäulnispilze, wie *Bacillus putrificus*, entwickeln sich, und die Fäulnis verläuft in diesem Falle zwar anfangs langsamer, nach der Neutralisierung aber so schnell wie bei der Abwesenheit von Zucker. Diese **fäulnishemmende Wirkung des Zuckers** ist seit alters bekannt und zur Konservierung leicht faulender Stoffe ausgenutzt worden. E. Salkowski (6) bringt einige Angaben darüber. Simnitzki (1) hat den Einfluß verschiedener Zuckerarten auf die Fäulnis geprüft und hat gefunden, daß am stärksten Lactose, in geringerem Maße Glucose und nur sehr wenig Galactose hemmend wirken. Diese Unterschiede sind vermutlich darauf zurückzuführen, daß aus Lactose vorwiegend Milchsäure, aus Glucose daneben auch flüchtige

Säuren, aus Galactose fast nur solche entstehen, deren entwicklungshemmende Kraft geringer als die der Milchsäure ist. Kuhn (1) sowie Tissier und Martelly (1) haben beobachtet, daß *Bacterium vulgare*, *Bacillus perfringens*, *Bacillus bifermentans sporogenes* in zuckerhaltigen Lösungen Eiweißstoffe nur in geringem Grade zersetzen und ihre 5 Lebenstätigkeit bald einstellen. Ueber den Einfluß des Zuckers auf die Zersetzung der Peptone durch *Bacterium coli* werden im folgenden Paragraphen noch einige Angaben gebracht werden. Bienstock (1) glaubte, daß die von ihm beobachtete Entwicklungshemmung des *Bacillus putrificus* in zuckerhaltigen Nährlösungen durch *Bacterium* 10 *coli* und Milchsäurebakterien nicht nur auf die von ihnen erzeugte Milchsäure, sondern auf eine diesen Arten eigene besondere „antagonistische" Kraft zurückzuführen sei. Doch wiesen Tissier und Martelly (1) nach, daß der „Antagonismus" sofort verschwindet, wenn man für die Neutralisierung der Gärungssäuren sorgt, indem man der Nährlösung kohlen- 15 sauren Kalk oder den durch *Bacillus putrificus* leicht zu kohlensaurem Ammon vergorenen Harnstoff zusetzt. Ist, wie dies in der Natur meist der Fall sein wird, der Zuckergehalt der faulenden Stoffe nur ein geringer, so wird *Bacterium coli* die Entwicklung des *Bacillus putrificus* nicht nur nicht hemmen, sondern begünstigen, da es aus Peptonen Am- 20 moniak erzeugt und dadurch zur Neutralisierung der Gärungssäuren beiträgt und den Sauerstoff verzehrt. Ebenso wie die Säuren beeinflussen auch Alkalien den chemischen Verlauf der Proteinzersetzung. Blumenthal (1) hat gefunden, daß bei hohem Alkaligehalt weniger Schwefelwasserstoff, Mercaptan und Indol gebildet wird als bei geringerem. 25

§ 25. Die Flora der natürlichen Fäulnis des Fleisches, der Milch und der Eier.

Nur für wenige der in der Natur und in den Gewerben verlaufenden Fäulnisvorgänge liegen bisher systematische Untersuchungen der Pilzflora vor. Tissier und Martelly (1) haben die Bakterien der **Fleisch-** 30 **fäulnis** eingehend untersucht. Bei ihr treten anfangs nur Aerobe auf, die gleichzeitig den im Fleisch in der Menge von ca. 1 Proz. enthaltenen Zucker und die Proteinstoffe vergären. Man findet in diesem Abschnitt der Zersetzung *Bacterium vulgare*, *Bacterium coli*, *Micrococcus pyogenes*, *Streptococcus pyogenes* und andere Coccaceen. Nachdem sie den im 35 Fleisch vorhandenen Sauerstoff verzehrt und den Zucker zum Teil zu Säuren vergoren haben, die aber teilweise wieder durch das bei der Zersetzung des Proteins entstandene Ammoniak neutralisiert werden, erscheinen nach drei bis vier Tagen die ersten Anaeroben und zwar solche, die auch Zucker vergären, wie *Bacillus perfringens* und *Bacillus* 40 *bifermentans sporogenes*. Nach acht bis zehn Tagen ist der Zucker vergoren, die Reaktion ist alkalisch geworden, und nun vermehren sich die säureempfindlichen Anaeroben, *Bacillus putrificus*, *Bacillus putidus gracilis* und der die Peptone abbauende *Diplococcus magnus anaerobius*. Die Zucker vergärenden Fäulnispilze treten allmählich gegen sie zurück. 45 Geht die Fäulnis des Fleisches unter Abschluß der Luft vor sich, so bleiben die Aeroben aus, die Anaeroben entwickeln sich aber in derselben Folge. Klein (2) hat ebenfalls bei der Fäulnis der Leichen beobachtet, daß anfangs *Bacterium vulgare* und *Bacterium coli* vorherrschen, daß diese Pilze aber bald ganz gegen *Bacillus putrificus* zurücktreten. 50

Ein ganz anderes Verhalten gegen die Fäulnis zeigt die **Milch**, das ohne weiteres verständlich ist, wenn man erwägt, daß sie ca. 4 Proz. Milchzucker enthält, so daß große Mengen von Gärungssäuren beseitigt werden müssen. Wir verdanken Tissier und Gasching (1) eine eingehende Untersuchung über den Verlauf der Fäulnis der rohen Milch. Es entwickeln sich zunächst Spaltpilzarten, die teils nur die Proteinstoffe, teils außer diesen auch die Lactose vergären. Zu ersteren gehören die Kartoffel- und Heubazillen, zu letzteren *Bacterium coli* und *Streptococcus acidi lactici* Grotenfelt. Frisch geronnene Milch enthält daher, wie Hofmeister (1) nachwies und Kozai (1) u. a. bestätigten, stets Peptone. Es folgen dann die eigentlichen Milchsäuerungsbakterien, die ebenfalls die ersten Spaltungsprodukte der Proteine weiter abbauen. Durch die nun sehr schnell verlaufende Milchsäuregärung der Lactose erreicht die Milch einen so hohen Säuregehalt, daß jede Bakterientätigkeit aufhört. Bei Luftabschluß ist damit die Zersetzung zu Ende. Bei Luftzutritt erscheinen dagegen nach drei bis vier Tagen Eumyceten und zwar meist *Oidium lactis*, seltener *Rhizopus nigricans*. Sie verbrennen die Milchsäure, bauen auch die Proteine ab und verringern so den Säuregrad der Milch soweit, daß die Milchsäurebakterien, nicht aber die eigentlichen Fäulniserreger sich wieder entwickeln können. Neben ersteren tritt jetzt auch eine anaerobe Buttersäurebakterie in Arbeit, welche die durch Hydrolyse der Lactose entstehenden Hexosen zu Propion- und Buttersäure vergärt und auch die Peptone abbaut. Der Säuregrad der Milch steigt jetzt noch einmal und erreicht mit zwei Wochen sein Maximum. Die Bakterientätigkeit hört wieder auf und die Eumyceten verbrennen nun die Säuren und den Rest der Lactose, so daß nach ungefähr zwei Monaten auch die proteinzersetzenden Bakterien, besonders *Proteus Zenkeri* und eine vermutlich in die Gruppe der Colibakterien gehörende, von Petruschky (1) *Bacillus faecalis alcaligenes* genannte Art, den Abbau der Eiweißstoffe zu Ende führen können. Die Anaerobier, wie *Bacillus putrificus*, spielen bei dieser Fäulnis keine Rolle. Diese Spezies ist in Milch selten und ihre proteolytische Kraft ist durch den langen Aufenthalt in der stark sauren Flüssigkeit meist sehr geschwächt. Durch ihren hohen Gehalt an Milchzucker schützt die Milch auch andere in ihr befindliche Stoffe vor der Fäulnis und sie dient daher im Haushalte vielfach als Konservierungsmittel. Auch die Darmfäulnis wird, wie die Untersuchungen von Hirschler (1), Winternitz (1), Rovighi (1) und Schmitz (1) ergeben haben, durch Milch, Kefir, frischen Käse erheblich vermindert. Tötet man durch Pasteurisieren und Sterilisieren die in der Milch stets enthaltenen Milchsäurebakterien oder neutralisiert man die in ungekochter Milch entstehende Milchsäure durch kohlensauren Kalk, so fault sie, wie Blumenthal (2) nachgewiesen hat, leicht. Ueber die an dem Abbau des Caseins beteiligten kochfesten Bakterien vergleiche man das 9. Kapitel des II. Bandes.

Der Inhalt der frisch gelegten **Eier der Vögel**, also insbesondere der Hühner, ist nicht in allen Fällen frei von Pilzen. Gayon (1) hat im Jahre 1875 nachgewiesen und Zimmermann (1) hat später bestätigt, daß die Eier, auch bei völlig gesunden Tieren, schon während ihres Entstehens der Ansteckung durch Bakterien ausgesetzt sind. Diese dringen von der Kloake des Vogels aus in den Eileiter vor, mischen sich dort dem Eiweiß des werdenden Eies zu und vermehren sich darin, wenn dieser Nährboden ihnen zusagt. Es wird also dann schon das frisch gelegte Ei bakterienhaltig sein. Daran muß man sich erinnern,

wenn man nach dem Vorschlage von F. HUEPPE (1) rohe Eier zur Züchtung von Bakterien benutzen will. Auf die Entwicklung solcher frühen Eindringlinge sind in den meisten Fällen die unerwünschten Zersetzungen zurückzuführen, die in den Eiern nicht selten sich einstellen. Die Reinzüchtung derartiger Schädlinge hat zuerst SCHRANK (1) versucht, in 5 größerem Umfange dann ZÖRKENDÖRFER (1) unternommen. Nach diesem tritt die sogen. freiwillige stinkige Fäulnis der Eier in zweierlei Form auf. Bei der ersten verfärbt sich das Eiweiß über Weißlichgrau zu Graugrün. Der Dotter verwandelt sich allmählich in eine schwarzgrüne schmierige Masse. Später vermengt er sich mit dem Eiweiß, so daß 10 dann der ganze Inhalt des Eies eine breiige Jauche darstellt, die stark nach Schwefelwasserstoff riecht. Dieses Gas wird nicht selten in solcher Menge erzeugt, daß es die Eischale unter Knall zersprengt. Von den dabei tätigen Organismen hat ZÖRKENDÖRFER zehn Arten reingezüchtet und als *Bacillus oogenes hydrosulfureus* α, β, γ, δ, ε, ζ, η, ϑ, ι, $\varkappa$ unter- 15 schieden. Die ersten sechs verflüssigen die Nährgelatine. Die zweite Form der Eierfäule verläuft ohne die Entwicklung von Schwefelwasserstoff. Dotter und Eiweiß treten hier bald zu einer anfangs dünnflüssigen, später breiartigen, leicht ockergelben Masse zusammen, die einen an menschlichen Kot erinnernden Geruch besitzt. Als Erreger 20 dieser Zersetzung hat ZÖRKENDÖRFER fünf Spezies beschrieben und als *Bacillus oogenes fluorescens* α, β, γ, δ, ε unterschieden, von denen der erste die Nährgelatine verflüssigt. Sie erzeugen einen lichtgrünen, blau fluoreszierenden Farbstoff. Eine eigentliche Fäulnis bringen nur die Arten γ, δ, ζ der ersten Gruppe hervor. Alle diese Bakterienarten sind 25 aerob, der Sauerstoff gelangt zu ihnen von außen durch die Eischale. Auch *Bacterium vulgare* und *Bacterium coli* findet man in Eiern oft. ABEL und DRAER (1) haben auch strenge Anaerobe in ihnen nachgewiesen.

Wie für Gase, so ist die Eischale auch für Flüssigkeiten und Bakterien durchgängig; die Infektion kann daher auch von außen erfolgen, 30 wie ZÖRKENDÖRFER gezeigt hat. Auch Cholera- und Typhusbakterien wandern nach den Beobachtungen von WILM (1) und PIORKOWSKI (1) auf diese Weise in die Eier ein. Da die meisten eiverderbenden Spaltpilze luftbedürftig sind, so kann man, gelegentlich bemerkt, die Eier am einfachsten durch Abschluß von der Luft **haltbar machen.** Man er- 35 reicht dies dadurch, daß man sie mit einer luftundurchlässigen Schicht von Fett, Vaseline, Paraffin, Wasserglas, Kollodium oder anderen Stoffen überzieht oder sie in Flüssigkeiten einlegt, in denen sich Bakterien nicht entwickeln können. Von solchen haben sich besonders Wasserglas und Kalkwasser bewährt. Wird aber aus letzterem durch die 40 Kohlensäure der Luft der Kalk allmählich ausgeschieden, so entwickeln sich, wie eine Beobachtung SCHRANK's (2) zeigt, Fäulnisbakterien in ihm und dringen in die Eier ein. Auch werden die Schalen der Kalkeier sehr brüchig, so daß sie sich nicht mehr kochen lassen, ein Nachteil, den auch die Aufbewahrung in Wasserglas hat. Eine zu sehr ver- 45 dünnte Wasserglaslösung dringt auch, wie eine Beobachtung BORNTRÄGERS (1) zeigt, in die Eier ein und verwandelt den Inhalt in eine hornartige Masse. Auch Kochsalzlösung wird zum Einlegen der Eier verwendet; doch dringen aus ihr leicht so große Mengen Salz in das Ei ein, daß es ungenießbar wird. Andere Frischhaltungsverfahren be- 50 gnügen sich damit, die Einwanderung der Bakterien in die Eier zu verhindern. Zu diesem Zwecke werden sie mit Lösungen von Alaun, Borsäure, Kaliumpermanganat und anderen Desinfektionsmitteln bestrichen

oder kurze Zeit in sie eingelegt und nach dem Abtrocknen in Holzasche, trockenem Papier, Sägespänen oder anderem porösen Packmaterial aufbewahrt. Bei der Verwendung von Holzasche ist einige Vorsicht nötig, da nach einer Mitteilung von Svoboda (1) bei längerem Aufbewahren in ihr zuweilen soviel Alkali in das Innere des Eies gelangt, daß der Inhalt erstarrt. Eier durch Pasteurisieren vor Zersetzung zu bewahren, ist leider nicht möglich, trotzdem die Bakterien der Eifäule schon bei zweitägigem Verweilen bei Temperaturen von mehr als 40° C sterben. Es leidet jedoch schon bei dieser milden Behandlung die Güte des Eies. An dem Verderben der Eier während ihrer Aufbewahrung sind nicht in allen Fällen Bakterien, sondern manchmal auch höhere Pilze (Eumyceten) schuld, welche die Eischale durchdringen und dann innerhalb dieser üppig wuchern. Gelegentliche Angaben darüber findet man im 12. Kapitel des IV. Bandes.

Kurz erwähnt sei hier eine Beobachtung Biffen's (1), daß Kautschukblöcke, die durch Gerinnung des Milchsaftes gewonnen werden, durch Fäulnisbakterien zuweilen in eine schwammige, faulige Masse verwandelt werden.

In betreff der Fäulnisbakterien des Gerbereibetriebes sei auf das 2. Kapitel des V. Bandes verwiesen.

Die Fäulnisflora einiger sehr proteinreicher Futtermittel aus dem Pflanzenreiche ist im 21. Kapitel des II. Bandes beschrieben.

Betreffs der Pilze, die bei der Fäulnis proteinarmer Pflanzenteile tätig sind, vergleiche man die Angaben über die Fäulnis des Obstes, der Gemüse, die Reifung der Tabaksblätter und ähnliche Vorgänge. Bei ihnen allen spielt die Fäulnis in engerem Sinne, die Zersetzung der Proteine, die geringste Rolle und ihre Flora ist deshalb auch eine wesentlich andere als die der tierischen Fäulnis. Während bei dieser ausschließlich Bakterien tätig sind, beteiligen sich an der Fäulnis der Pflanzen auch höhere Pilze. Bail (1), der die Fäulnis der Blätter des Rhabarbers auf der Erdoberfläche eingehender verfolgte, fand in dem ersten Abschnitte der Zersetzung Faden- und Sproßpilze, letztere in besonders großer Zahl, daneben ein Milchsäure bildendes Bakterium. Später erschien *Bacillus subtilis*, mit dessen Auftreten erst die tiefere Zersetzung der Pflanzenmasse unter gleichzeitiger Zerstörung der körperlichen Form eintrat.

§ 26. Der Abbau der Proteinstoffe.

Bei der Zersetzung der Proteinstoffe durch die Fäulnisbakterien entstehen dieselben Stoffe wie bei ihrer Spaltung durch Säuren und Alkalien. M. Nencki (1) hat auf Grund seiner eigenen und der älteren Untersuchungen Bopp's (1) darauf hingewiesen, daß besonders die Zersetzung der Proteine durch schmelzendes Kali der Fäulnis völlig gleiche. Es entstehen zunächst den Eiweißkörpern ähnliche, aber einfacher zusammengesetzte Stoffe, die Albumosen und Peptone, deren chemische Konstitution noch nicht erforscht ist. Diese zerfallen dann weiter in Aminosäuren verschiedener Art, die ersten Abbaustoffe, deren molekularer Aufbau bekannt ist. Bis zu diesem Punkte ist die Zersetzung der Proteinstoffe lediglich ein hydrolytischer Vorgang, der von den proteolytischen Enzymen der Fäulnisbakterien durchgeführt wird. Tissier und Martelly (1) haben in bakterienfreien Kulturen des *Bacillus putrificus*, Emmerling und Reiser (1) in den zermahlenen Zellen des *Bacterium*

fluorescens liquefaciens Enzyme nachgewiesen, die Fibrin in Pepton und Aminosäuren zerlegten. Auch die älteren Befunde E. SALKOWSKI's (1), sowie einige neuere Beobachtungen über den Abbau des Caseins in Käsen, deren Flora durch Chloroform getötet wurde (s. 10. Kap. d. II. Bds.), lassen sich vielleicht in diesem Sinne deuten. Ob auch die weitere Zersetzung der Aminosäuren durch Enzyme, und zwar Endoenzyme, bewirkt wird, ist zurzeit noch nicht sichergestellt, aber immerhin wahrscheinlich. Nähere Angaben über die proteolytischen Enzyme findet man in den letzten Paragraphen dieses Kapitels. Da die Aminosäuren durch einfache Hydrolyse der Proteine entstehen, so nimmt man an, daß sie als solche in diesen vorhanden sind und daß alle anderen Fäulnisstoffe sekundär aus ihnen gebildet werden. Die weitere Zersetzung erfolgt nur bei Anwesenheit der lebenden Bakterien und führt durch Reduktion der Aminosäuren zu den entsprechenden stickstoffreien Säuren. Nach M. NENCKI's Untersuchungen, die neuerdings durch BIENSTOCK bestätigt worden sind, hat die Fäulnis damit bei den strengen Anaeroben ihr Ende erreicht. Verläuft sie dagegen bei Luftzutritt, so werden die stickstoffreien Säuren durch abwechselnde Reduktion und Oxydation unter Kohlensäureabspaltung stufenweise zu den niederen Homologen abgebaut. Erst mit dem Auftreten der Aminosäuren beginnt unser sicheres Wissen über den chemischen Verlauf der Fäulnis. Ihr Abbau ist fast lückenlos studiert und wir können ihn durch eine Anzahl chemischer Gleichungen ausdrücken.

Die Abbaustoffe des Proteins gehören teils zu den aromatischen, teils zu den aliphatischen Verbindungen. Ihre Zahl ist außerordentlich groß. Doch darf man dabei nicht vergessen, daß manche der bei der Fäulnis auftretenden Stoffe vielleicht auf sekundäre, synthetische Vorgänge zurückzuführen sind.

Die **Fäulnisstoffe aromatischer Natur** entstehen nach den Anschauungen von NENCKI (2), BAUMANN (1) und E. SALKOWSKI (2) durch den Abbau dreier im Eiweißmolekül vorhandenen aromatischen Aminosäuren, der α-Phenylaminopropionsäure, der p-Oxyphenyl-α-Aminopropionsäure (des Tyrosins) und der Indolaminopropionsäure. Nachgewiesen hat man bei der Fäulnis bisher nur das Tyrosin und neuerdings auch die Indolaminopropionsäure. Diese ist nach den Untersuchungen von F. G. HOPKINS und S. W. COLE (1) in einem bei der Fäulnis, der normalen Verdauung des Proteins durch Trypsin und der Spaltung durch Säuren schon oft beobachteten, aber seinem Wesen nach nicht erkannten Stoffe, dem sogen. Tryptophan, enthalten. Dagegen ist die Phenylaminopropionsäure bislang nur bei der Zersetzung des Eiweißes in Keimlingen höherer Pflanzen von E. SCHULZE und BARBIERI (1) aufgefunden worden. Der **Abbau der Aminosäuren** vollzieht sich in folgenden Stufen:

Erste Stufe:

a) $$\underset{\text{Phenylaminopropionsäure}}{C_6H_5\cdot CH_2\cdot CH(NH_2)CO_2H} + H_2 = \underset{\text{Phenylpropionsäure}}{C_6H_5\cdot(CH_2)_2CO_2H} + NH_3$$

b) $$\underset{\substack{\text{p-Oxyphenylaminopropionsäure}\\ \text{(Tyrosin)}}}{C_6H_4{<}^{OH}_{CH_2\cdot CH(NH_2)CO_2H}} + H_2 = \underset{\substack{\text{p-Oxyphenylpropionsäure}\\ \text{(Hydroparakumarsäure)}}}{C_6H_4{<}^{OH}_{(CH_2)_2CO_2H}} + NH_3$$

c) $$\underset{\substack{\text{Indol-Pr-3-}\alpha\text{-Aminopropionsäure}\\ \text{(Tryptophan)}}}{C_6H_4{<}^{C\cdot CH\cdot(CO_2H)\cdot CH_2\cdot NH_2}_{NH}{>}CH} + H_2 = \underset{\substack{\text{Indol-Pr-3-}\alpha\text{-Propionsäure}\\ \text{(Skatolessigsäure)}}}{C_6H_4{<}^{C\cdot CH\cdot(CO_2H)CH_3}_{NH}{>}CH} + NH_3$$

Zweite Stufe:

a) $$\underset{\text{Phenylpropionsäure}}{C_6H_5(CH_2)_2CO_2H} + 3O = \underset{\text{Phenylessigsäure}}{C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CO_2H} + CO_2 + H_2O$$

$$\underset{\text{Phenylessigsäure}}{C_6H_5(CH_2)CO_2H} + 3O = \underset{\text{Benzoesäure}}{C_6H_5 \cdot CO_2H} + CO_2 + H_2O$$

b) $$\underset{\text{p-Oxyphenylpropionsäure}}{C_6H_4<^{OH}_{(CH_2)_2\,CO_2H}} + 3O = \underset{\text{p-Oxyphenylessigsäure}}{C_6H_4<^{OH}_{CH_2\,CO_2H}} + CO_2 + H_2O$$

$$\underset{\text{p-Oxyphenylessigsäure}}{C_6H_4<^{OH}_{CH_2\,CO_2H}} = \underset{\text{p-Kresol}}{C_6H_4<^{OH}_{CH_3}} + CO_2$$

$$\underset{\text{p-Kresol}}{C_6H_4<^{OH}_{CH_3}} + 3O = \underset{\text{p-Oxybenzoesäure}}{C_6H_4<^{OH}_{CO_2H}} + H_2O$$

$$\underset{\text{p-Oxybenzoesäure}}{C_6H_4<^{OH}_{CO_2H}} = \underset{\text{Phenol}}{C_6H_5 \cdot OH} + CO_2$$

c) $$\underset{\text{Indol-Pr-3-}\alpha\text{-Propionsäure}}{C_6H_4\left\langle\begin{matrix} C \cdot CH(CO_2H)CH_3 \\ NH \end{matrix}\right\rangle CH} + 3O = \underset{\substack{\text{Indol-Pr-3-Essigsäure} \\ \text{(Skatolcarbonsäure)}}}{C_6H_4\left\langle\begin{matrix} C \cdot CH_2 \cdot CO_2H \\ NH \end{matrix}\right\rangle CH} + CO_2 + H_2O$$

$$\underset{\text{Indol-Pr-3-Essigsäure}}{C_6H_4\left\langle\begin{matrix} C \cdot CH_2 \cdot CO_2H \\ NH \end{matrix}\right\rangle CH} = \underset{\text{Skatol}}{C_6H_4<^{C(CH_3)}_{NH}> CH} + CO_2 \,,$$

$$\underset{\text{Skatol}}{C_6H_4<^{C(CH_3)}_{NH}> CH} + 3O = \underset{\text{Indol}}{C_6H_4<^{CH}_{NH}> CH} + CO_2 + H_2O$$

Von den aus den Carbonsäuren durch Kohlensäureabspaltung möglichen Verbindungen sind in dieser Zusammenstellung nur die wenigen (Phenol, Kresol, Skatol) aufgenommen, die man bisher bei der Fäulnis nachgewiesen hat. Dagegen sind hier noch zwei Basen zu erwähnen, die aus den Aminosäuren durch Abspaltung von Kohlensäure nach folgenden Gleichungen entstehen:

$$\underset{\text{Phenylaminopropionsäure}}{C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2)CO_2H} = \underset{\text{Phenyläthylamin}}{C_6H_5 \cdot (CH_2)_2NH_2} + CO_2$$

$$\underset{\text{p-Oxyphenylaminopropionsäure}}{C_6H_4<^{OH}_{CH_2 \cdot CH(NH_2)CO_2H}} = \underset{\text{p-Oxyphenyläthylamin}}{C_6H_4<^{OH}_{(CH_2)_2NH_2}} + CO_2$$

Das Phenyläthylamin ist bei der Fäulnis wiederholt beobachtet worden, worüber im folgenden Paragraphen Näheres gesagt werden wird. Das p-Oxyphenyläthylamin ist bisher nur bei der Zersetzung des Caseins im reifenden Käse (s. 9. Kap. d. II. Bds.) nachgewiesen worden. Da es nach den Untersuchungen von EMERSON (1) auch bei der aseptischen Verdauung des Pankreas entsteht, so erscheint es möglich, daß auch diese Kohlensäureabspaltung ein enzymatischer Vorgang ist. Die

entsprechende Base der Indolaminopropionsäure kennt man zur Zeit noch nicht.

Fast alle der in vorstehender Übersicht aufgeführten Verbindungen hat man bei der Fäulnis der Proteinstoffe beobachtet. Nur die p-Oxybenzoësäure hat sich bisher dem Nachweise entzogen. Doch hat Baumann (2, 3) festgestellt, daß aus ihr durch Fäulnisbakterien leicht Phenol erzeugt wird und daß sie andererseits im Tierkörper aus p-Kresol entsteht.

Die Phenylpropionsäure und die Phenylessigsäure sind von E. und H. Salkowski (1) bei der Fäulnis entdeckt worden. Baumann (4) hat die Phenylessigsäure auch durch Fäulnis der Phenylpropionsäure dargestellt. Die p-Oxyphenylpropionsäure wurde von Baumann (1) bei der Fäulnis des Tyrosins, von E. und H. Salkowski (2) bei der des Eiweißes erhalten; von ihnen (3) wurde auch die entsprechende Essigsäure dargestellt. Phenol gewann aus faulendem Eiweiß zuerst Baumann (2), nachdem E. Salkowski (3) gezeigt hatte, daß es im Harn bei verstärkter Darmfäulnis auftrete, eine Bestätigung älterer Befunde Staedeler's (1). Baumann (5) hat das Phenol auch durch Fäulnis aus p-Oxybenzoesäure, nicht aber aus Tyrosin erhalten. Gemeinsam mit dem Phenol tritt stets sein, von Baumann und Brieger (1) zuerst bei der Eiweißfäulnis nachgewiesenes Homologes, das p-Kresol, auf, das Weyl (1) auch durch Fäulnis des Tyrosins erhielt. Brieger (1) hat beide aus Fäces dargestellt. Auch im Harn kommen sie stets vor und zwar nach den Untersuchungen Baumann's und Herter's (1) mit Schwefelsäure zu sog. gepaarten Säuren verbunden. Die Indolpropionsäure hat M. Nencki (2), der sie für Skatolessigsäure hielt, später auch E. Salkowski (4) in faulenden Stoffen aufgefunden. Ihr niedriges Homologes, die Indolessigsäure, wurde von E. und H. Salkowski (2, 4) dargestellt und von ihnen Skatolcarbonsäure genannt. Nach den neueren Untersuchungen von Ellinger (1), ist sie Indol-Pr-3-Essigsäure. Dem entsprechend kommt ihrem höheren Homologen und der entsprechenden Aminosäure wahrscheinlich die in der nebenstehenden Uebersicht angegebene Konstitution zu, da sich nur aus ihr die Ueberführung der letzteren in Kynurensäure (γ-Oxy-β-Chinolincarbonsäure) im Hundekörper erklären läßt.

Besonderes Interesse hat das **Indol**, da es von vielen Spaltpilzen in peptonhaltigen Nährlösungen in geringen Mengen gebildet wird. A. Lewandowski (1) hat viele Arten auf ihr Vermögen zur Indol- und Phenolbildung untersucht. In dem Handbuch der Bakteriologie von K. B. Lehmann und A. Neumann ist das Verhalten einer großen Anzahl von Spaltpilzen in dieser Beziehung tabellarisch dargestellt. Mit salpetriger Säure verbindet sich das Indol zu einem roten Farbstoff, dem Nitrosoindol. Da in den gebräuchlichen Nährlösungen von vielen Bakterien geringe Mengen Nitrite erzeugt werden, so entsteht das Nitrosoindol meist schon nach Zusatz einiger Tropfen verdünnter Schwefelsäure. Es wird daher diese leicht auszuführende, charakteristische Reaktion für die Differentialdiagnose oft verwendet. Von den pathogenen Bakterien zeichnet sich der *Vibrio cholerae* durch starke Indolbildung aus und da bei ihm die Nitrosoreaktion zuerst von Bujwid (1) beobachtet worden ist, so wird sie von den medizinischen Bakteriologen meist als Cholerarot-Reaktion bezeichnet. Auch *Bacterium coli* gehört, wie Kitasato (1) nachwies, zu den Indolbildnern, während *Bacterium typhi* in der üblichen 3-proz. Peptonlösung kein Indol erzeugt. Doch hat Morris (1) darauf aufmerksam gemacht, daß die Konzentration der

Peptonlösung diesen Vorgang beeinflußt und daß *Bacterium typhi* in 5-proz. Lösungen ebenfalls Indol bildet. Die Indolbildung des *Bacterium coli* ist nach den Untersuchungen von BAGINSKY (1), PÉRÉ (1), SEELIG (1), BIENSTOCK (1), TISSIER und MARTELLY (1) von dem Gehalt der Nährlösung an Zucker abhängig. Ist er so groß, daß die Gärungssäuren durch das von dem Mikroben aus dem Pepton erzeugte Ammoniak nicht genügend neutralisiert werden, oder werden die Säuren nicht durch kohlensauren Kalk abgestumpft, so bleibt die Indolbildung aus. In Mischkulturen hindert der Pilz unter solchen Umständen auch andere Arten an der Erzeugung des Indols. Das Indol ist rein zuerst von NENCKI (3) dargestellt worden. Oft mit ihm vergesellschaftet erscheint sein höheres Homologes, das von BRIEGER (1, 2) entdeckte **Skatol**. In besonders großen Mengen haben es NENCKI (4) und STÖCKLY (1) in faulendem Gehirn gefunden. Nach NENCKI (5) tritt es meist erst gegen Ende der Fäulnis auf. Beide Verbindungen riechen ekelhaft und verleihen zum guten Teile dem Kote seinen Geruch, in dem sie nach den Untersuchungen NENCKI's und BRIEGER's (1) stets vorhanden sind. Zum Teil werden sie aus dem Körper auch im Harn, wie die Phenole an Schwefelsäure gebunden, ausgeschieden, in dem sie NENCKI (6), sowie BRIEGER (3), auch in Gemeinschaft mit BAUMANN (3), nachgewiesen haben. Untersuchungen über das Mengenverhältnis von Phenol und Indol in verschiedenen Abschnitten der Fäulnis haben ODERMATT (1) und BRIEGER (4) ausgeführt. Alle der hier angeführten Abbauerzeugnisse der Indolaminopropionsäure haben HOPKINS und COLE (1) aus ihr durch Fäulnis dargestellt.

Die Abbaustoffe der Indolaminopropionsäure treten bei der Fäulnis nicht so regelmäßig auf, wie die der beiden anderen aromatischen Aminosäuren. Da sie auch bei der Zersetzung der Eiweißstoffe durch Säuren fehlen, dagegen bei der durch schmelzendes Kali gebildet werden, so hat man die Vermutung ausgesprochen, daß sie nicht durch Abbau aus dem Eiweiß sondern durch Synthese aus dem Tyrosin oder der Phenylaminopropionsäure entstehen, zumal die Abbaustoffe der Tyrosinreihe und das Indol stets gemeinsam bei der Fäulnis auftreten, und auch HEUMANN aus der Phenylaminoessigsäure durch Kalischmelze das dem Indol nahestehende Indigweiß dargestellt hat. Doch hat BAUMANN (1) aus Tyrosin weder durch Fäulnis noch durch Kalischmelze Indol und Skatol erhalten können. Ferner hat PÉRÉ (1) gezeigt, daß *Bacterium coli* nicht imstande ist, aus Zimmtsäure und Ammonsalzen Indol etwa in der Weise synthetisch zu erzeugen, wie dies BAEYER auf chemischem Wege aus der Nitrozimmtsäure gelungen ist. Nachdem durch die schon öfter erwähnten Untersuchungen von HOPKINS und COLE (1) nachgewiesen ist, daß die Indolaminopropionsäure (Tryptophan) auch bei der Verdauung und Spaltung der Proteinstoffe durch Trypsin und Säuren entsteht, liegt kein Grund mehr für die Annahme einer synthetischen Entstehung der Verbindungen der Indolreihe vor. Ferner haben A. ELLINGER und M. GENTZEN (1) gezeigt, daß auch im Darm das Tryptophan in Indol übergeführt wird.

Von den Stoffen aus der **aliphatischen Reihe** entstehen bei der Fäulnis zuerst ebenfalls Aminosäuren. Von ihnen sind besonders oft die Aminoessigsäure (das Glycocoll), $NH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$, und die Isobutyl-$\alpha$-Aminoessigsäure (das Leucin), $(CH_3)_2CH \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH$, gefunden worden. Nach den neuesten Untersuchungen von FELIX EHRLICH (1) entsteht neben dem Leucin bei der Fäulnis stets noch ein seiner Konstitution nach

unerforschtes Isoleucin. Auch Diaminosäuren, die von KOSSEL genauer studierten sog. Hexonbasen, das Arginin, α-δ-Amino-Guanidinvaleriansäure $(NH_2)(NH)C \cdot NH(CH_2)_3 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH$, das Lysin, α-ε-Diaminocapronsäure $NH_2(CH_2)_4CH(NH_2)COOH$, und das in seiner Konstitution noch unerforschte Histidin, die bisher nur bei der Zersetzung des Eiweißes in Keimlingen höherer Pflanzen oder durch Trypsin und Säuren beobachtet worden sind, entstehen nach den neueren Untersuchungen von EMMERLING und REISER (1) sowie TAYLOR (1) bei der Fäulnis. Die von H. SALKOWSKI (1) in faulendem Leim und Fleisch nachgewiesene δ-Aminovaleriansäure ist vermutlich ein Abbauerzeugnis des Arginins. Ueber die bei der Fäulnis stets entstehenden Basen findet man eingehende Angaben im folgenden Paragraphen. Aus dem Leucin entsteht durch Reduktion nach NENCKI's (1) Untersuchungen Valeriansäure. Außer dieser sind Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure und Kapronsäure beobachtet worden. Von zweibasischen Säuren tritt sehr häufig und in großer Menge die Bernsteinsäure auf, worüber man Angaben bei BLUMENTHAL (3), BRIEGER (5) und WOLFF (1) findet. Auch Oxalsäure hat EMMERLING (2) nachgewiesen.

Der **Schwefel** des Eiweißes tritt bei der Fäulnis teils als Schwefelwasserstoff, teils in organischer Verbindung als Methylmerkaptan, $CH_3 \cdot SH$, auf. Letzteres haben zuerst M. NENCKI und SIEBER (1) unter den Fäulnisgasen des *Bacillus magnus liquefaciens* entdeckt. Später ist es auch von E. und H. SALKOWSKI (1), BAUMANN (6), RUBNER (1), ZOJA (1), SELITRENNY (1), MORRIS (1) u. a. bei der Fäulnis und in peptonhaltigen Kulturen vieler Bakterien nachgewiesen worden. Auch die Darmgase enthalten es nach LÉON NENCKI's (1) Untersuchungen; es verleiht ihnen den unangenehmen Geruch. Häufiger als das Mercaptan wird von Spaltpilzen Schwefelwasserstoff erzeugt, besonders, wenn der Nährboden reich an Pepton ist. Auf die Fähigkeit in dieser Richtung haben STAGNITTA-BALISTRERI (1), PETRI und MAASSEN (1), MORRIS (1), K. B. LEHMANN und O. NEUMANN (1) eine große Zahl von Arten untersucht. Das Material für die Schwefelwasserstoffbildung bieten, wie RUBNER (2) nachgewiesen hat, nur die organischen schwefelhaltigen Stoffe, nicht die Sulfate. Auch zum Aufbau der Leibesmasse verwenden die Spaltpilze vorwiegend den Schwefel organischer Herkunft. Indessen kennt man auch Spaltpilze, die aus Sulfaten Schwefelwasserstoff bilden. Ueber diese wird im 8. Kapitel dieses Bandes berichtet. Ob der Schwefelwasserstoff, wie PETRI und MAASSEN (1) annehmen, durch Reduktion des Eiweißschwefels durch naszierenden Wasserstoff, oder, wie RUBNER (1, 2) glaubt, durch Spaltung des Eiweißmoleküls entsteht, ist nicht sicher erwiesen. Da das Eiweiß sowohl sehr locker, als auch sehr fest gebundenen Schwefel enthält, so kommen vielleicht beide Bildungsweisen in Betracht. Es ist wahrscheinlich, daß wie beim Abbau des Proteins im tierischen Körper auch bei der Fäulnis ein Teil des Schwefels in Form komplizierter Verbindungen (Taurin, Cystin) abgespalten wird, die dann in einfachere Stücke zerfallen. Das Mercaptan entsteht vermutlich auf diese Weise. BAUMANN (5) nimmt an, daß es vielleicht aus der von F. SUTER (1) bei der Spaltung des Hornes aufgefundenen Thioglycolsäure $SH \cdot CH_2 \cdot CO_2H$ durch Kohlensäureabspaltung gebildet wird, ebenso wie das von J. ABEL (1) im Hundeharn aufgefundene Aethylsulfid $(C_2H_5)_2S$ aus der Thiomilchsäure. Nicht vergessen darf man auch, daß nach RUBNER's (1) Beobachtungen gärende Hefe aus Schwefel synthetisch Aethylmercaptan bildet, und daß auch diese Entstehungsweise bei den Spaltpilzen möglich ist, da

sehr viele von ihnen geringe Mengen Alkohol erzeugen, für den die im Protein enthaltene Zuckergruppe das Material liefern könnte. Wichtig ist in dieser Beziehung die Beobachtung A. Maassen's (Petri und Maassen [1]), daß eine Fruchtäther bildende Bakterie, *Bacillus esterificans*, 5 in besonders starkem Grade Mercaptan erzeugt. Für eine solche Synthese sprächen vielleicht auch die Beobachtungen Rubner's, Simnitzki's (1) u. a., daß bei der spontanen Fäulnis zuerst Schwefelwasserstoff, später Mercaptan entsteht. Für die schnelle **Erkennung der Schwefelwasserstoffbildner** auf Platten eignet sich die von Fromme (1) 10 angegebene Fleischsaftpeptongelatine mit 3 Proz. Eisentartrat oder Eisensaccharat. Die Kolonien der Schwefelwasserstoffbildner umgeben sich auf ihr mit einem schwarzen Hof von Schwefeleisen. Beijerinck (2) schlägt für denselben Zweck Bleikarbonat vor.

Ueber den Verbleib des **Phosphors** der Proteine bei der Fäulnis ist 15 bisher wenig bekannt. Vielfach wird behauptet, daß ein Teil als Phosphorwasserstoff (PH_3) entweicht, so von Selmi, Gautier und Etard (1), Poleck (1), Kreps (1), Stich (1), Marpmann (1). Besonders bei der Fäulnis der Fische macht sich dieser Stoff durch seinen knoblauchartigen Geruch bemerklich. Auch in stark zersetztem Käse, bei der Fäulnis von 20 Gehirn, Erdnußkuchen, Hefe u. a. wurde er beobachtet. Dagegen haben aber andere Untersucher, wie Fresenius und Neubauer (1), Halasz (1), Fischer (1) und Yokote (1), Phosphorwasserstoff bei der Fäulnis nie beobachtet, so daß die Frage vorläufig strittig bleibt.

Bei der Fäulnis entstehen außer den genannten Gasen stets Kohlen- 25 säure, Wasserstoff und Ammoniak, zuweilen auch Methan und Stickstoff. Ausführliche Analysen der **Fäulnisgase** haben unter anderen Hüfner (1), Bovet (1), M. Nencki und N. Sieber (1) ausgeführt. Stickstoff entsteht bei der Fäulnis stets bei Anwesenheit von Nitraten. Zweifelhaft ist es, ob er auch zuweilen unmittelbar aus dem Eiweiß abgespalten wird. 30 Ueber diese Vorgänge wird im 16. und 17. Kapitel dieses Bandes noch eingehender zu sprechen sein.

Nicht alle der hier aufgeführten Zersetzungsstoffe, deren Kenntnis wir fast ausschließlich den Untersuchungen von nicht mit Reinzuchten durchgeführten Fäulnisvorgängen verdanken, werden bei jeder Fäulnis 35 beobachtet. So fehlen bei der des Leims und Elastins, — Stoffen, die allerdings nicht zu den eigentlichen Proteinen gehören — nach den Untersuchungen von M. Nencki (7), Wälchli (1), Zoja (1), Selitrenny (1), Jeanneret (1) u. a. stets die Indolaminopropionsäure und das Tyrosin und deren Abbaustoffe; dagegen entsteht Glycocoll dabei in besonders 40 reichlicher Menge. Dieser Befund stimmt mit den Ansichten der Chemiker überein, daß das Leimmolekül die genannten beiden aromatischen Gruppen nicht enthält. Je nach den äußeren Umständen und der Art der zersetzenden Bakterien werden ferner manche der Fäulnisstoffe vermutlich so schnell weiter zersetzt, daß sie sich dem chemischen Nachweise ent- 45 ziehen. Andererseits ist die Fähigkeit, Protein zu zersetzen, bei manchen Spaltpilzarten vielleicht auf die Abspaltung und den Abbau bestimmter Atomkomplexe des Proteinmoleküls beschränkt, so daß bei der Fäulnis durch Reinzuchten manche der bei der natürlichen Fäulnis entstehenden Stoffe ausbleiben können. Doch sind die Unterschiede der Zersetzungs- 50 erzeugnisse verschiedener Spaltpilzarten nach den bisherigen Erfahrungen so gering, daß es keinen Zweck hat, hier alle Befunde ausführlich zu erwähnen, zumal es sehr leicht möglich ist, daß spätere eingehendere

chemische Untersuchungen auch die bisher vermißten Spaltungsstücke zutage fördern werden.

Es soll darum nur eine gedrängte Uebersicht über die zur Zeit vorliegenden geringen Kenntnisse der **Proteinzersetzung durch Bakterien in Reinzucht** gegeben werden. Bei der Zersetzung des Klebers und des Fibrins durch *Bacterium vulgare* haben Emmerling (2) und Tissier und Martelly (1) Phenol, Indol, Amine und flüchtige Fettsäuren gefunden, während Taylor (1) bei der des Caseins durch denselben Pilz nur Albumosen, Peptone und Aminosäuren verzeichnet. *Streptococcus longus* zerlegt nach Emmerling (1) bei Luftabschluß Fibrin in Tyrosin, Leucin, Amine, Fettsäuren; dagegen fehlen Indol, Phenole und Oxysäuren. Nach Tissier und Martelly (1) wirkt dieser Pilz nicht auf Fibrin, sondern nur auf Peptone zersetzend. Aehnliche Unterschiede zeigen die Angaben über *Bacterium coli.* Nach Taylor (1) spaltet es Casein bis zu Albumosen, während Tissier und Martelly (1) angeben, daß dieser Pilz nur Peptone unter Bildung von Ammoniak und Indol zerlege. Auch Pfaundler (2) und Dieudonné (1) haben eine Spaltung der Eiweißstoffe des Serums durch diesen Spaltpilz nicht feststellen können. Es scheint, daß seine proteinzersetzende Fähigkeit sich auf die Abtrennung kleinerer Atomkomplexe aus dem Proteinmolekül beschränkt. Rettger (1) hat bei der Zersetzung von Eier-Fleischmischung durch ihn auch Skatol, Phenol, aromatische Oxysäuren, Indolessigsäure, Leucin und flüchtige Schwefelverbindungen beobachtet. Die Zersetzung des Eieralbumins bei Luftabschluß durch *Micrococcus pyogenes* verläuft nach Emmerling (2) ähnlich der des Klebers durch *Bacterium vulgare;* auch Tissier und Martelly (1) haben über die Fäulniserzeugnisse dieses Pilzes einige Angaben gebracht. Bei der Einwirkung des *Bacterium fluorescens liquefaciens* auf Leim haben Emmerling und Reiser (1) Amine und Ammoniak, jedoch nicht Schwefelwasserstoff, Phenol und Indol wahrgenommen. Kalischer (1) berichtet über die Zersetzung des Caseins durch eine der aeroben peptonisierenden Milchbakterien, bei der er Leucin, Tyrosin, Fettsäuren, aromatische Oxysäuren und Tryptophan, dagegen kein Skatol, Indol und Phenol fand. In derselben Weise zersetzte nach Maassen (1) auch *Bacillus praepollens* Pepton. Kühne (1) hat bei der Einwirkung von *Bacillus subtilis* und *Bacterium prodigiosum* auf Albumosen Leucin, Tyrosin, Tryptophan beobachtet. Einige Mitteilungen über die Zersetzung von Eiweiß durch mehrere Vibrionenarten hat St. Rontaler (1) veröffentlicht. Petri (1) hat in Eiweiß- und Fleischzuchten des *Vibrio cholerae* Leucin, Tyrosin, Indol, Amine und Fettsäuren gefunden. Betreffs der obligaten Anaeroben haben es M. Nencki (2) und seine Schüler Kerry (1) und Selitrenny (1) durch ihre Untersuchungen an *Bacillus magnus liquefaciens, B. spinosus, B. oedematis maligni* und *B. Chauvoei* wahrscheinlich gemacht, daß diese Spaltpilze das Proteinmolekül nur bis zu den ersten Reduktionserzeugnissen der Aminosäuren, wie Indolpropionsäure, Phenylpropionsäure, p-Oxyphenylpropionsäure, Valeriansäure, Essigsäure u. a. abbauen, daß aber alle weiteren Spaltungsstücke in ihren Kulturen stets fehlen. Wallach hat in Gemeinschaft mit Bienstock (1, 2) dies für *Bacillus putrificus, Bacillus oedematis maligni* und *Clostridium foetidum* bestätigt, anscheinend aber auch Indolpropionsäure nicht gefunden. Dagegen behaupten Tissier und Martelly (1), daß die Anaeroben *Bacillus perfringens* und *Bacillus bifermentans sporogenes* Indol erzeugen, eine Angabe, deren Nachprüfung sehr wünschenswert erscheint. Ueber den Abbau des Caseins findet man etwas eingehendere Angaben im 10. Kapitel des II. Bandes. Er-

schöpfendere chemische Untersuchungen über die Fäulnis sind, angesichts der Kärglichkeit unserer Kenntnisse hierüber, sehr nötig.

§ 27. Die Ptomaine.

Der Mensch hat von jeher gewisse Krankheiten mit der Fäulnis in ursächliche Beziehungen gebracht. Etwas festeren Boden erhielt diese Vorstellung, als um die Mitte des 18. Jahrhunderts die englischen Aerzte John Pringle (1) und Adam Seyberth (1) durch Versuche nachwiesen, daß Tiere nach Einspritzung geringer Mengen faulender Flüssigkeiten in die Blutbahn unter den Erscheinungen schwerer Vergiftungen zugrunde gingen. Aber erst im Jahre 1856 teilte Panum (1) in einer damals wenig beachteten Arbeit mit, daß man aus faulenden Flüssigkeiten durch Alkohol einen giftigen Stoff fällen könne, der, dem Körper einverleibt, die Erscheinungen der sog. putriden oder septischen Intoxikation erzeuge, und dessen Lösungen ihre Giftigkeit auch durch stundenlanges Kochen nicht einbüßten. Die Entdeckung Panum's, deren Richtigkeit von Hemmer (1), Schweninger (1) und Müller (1) nachgeprüft und bestätigt wurde, war für die Erkenntnis des Wesens der von Bakterien erzeugten Krankheiten von großer Bedeutung. Zum ersten Mal wurde hier bewiesen, daß die Schädigung des Körpers durch die Spaltpilze nicht auf die lebenden Pilzzellen an sich, sondern auf von ihnen erzeugte und von ihnen trennbare Giftstoffe zurückzuführen sei. Heute ist diese damals noch hart bekämpfte Anschauung allgemein angenommen. Von Bergmann (1) und Schmiedeberg ist sodann im Jahre 1868 zuerst aus faulender Bierhefe das kristallisierende Sulfat einer giftigen organischen Base dargestellt worden, die sie „Sepsin" nannten, die aber von anderen nicht wiedergefunden worden ist und vermutlich ein Gemenge verschiedener Stoffe war. Neuerdings bezeichnet Faust (1) als Sepsin eine von ihm aus faulender Bierhefe dargestellte Base, deren Strukturformel vermutlich $NH_2 \cdot CH_2(CH \cdot OH)_2CH_2 \cdot CH_2 \cdot NH_2$ ist. Ihr Sulfat verwandelt sich bei wiederholtem Eindampfen seiner wässerigen Lösung in Cadaverinsulfat.

Von einem ganz anderen Gesichtspunkte als die Mediziner trat der italienische Chemiker Francesco Selmi (1) der Frage nach den Fäulnisgiften im Jahre 1872 näher. Er beobachtete, daß die zum Nachweise giftiger Pflanzenalkaloide in Kadavern von den Gerichtschemikern angewandte Methode von Stas-Otto zu schweren Irrtümern führen kann, da bei der Leichenfäulnis stets basische alkaloidartige Stoffe entstehen, die zwar mit den pflanzlichen Alkaloiden nicht gleichartig, aber immerhin ihnen so ähnlich sind, daß nur der erfahrene Toxikologe sie mit Sicherheit unterscheiden kann. Die Entdeckung Selmi's, die auch von anderen Chemikern, wie Rörsch (1) und Fassbender, Schwanert (1) u. a. m., bestätigt wurde, hat mehr als einem unschuldig des Giftmordes Angeklagten und durch den chemischen Nachweis des Giftes anscheinend Ueberführten das Leben gerettet. Nicht unerwähnt mag bleiben, daß A. Gautier (1) zu derselben Zeit wie Selmi feststellte, daß bei der Fäulnis des Blutfibrins Alkaloide entstehen, und daß Marquardt (1), Dupré und Bence Jones (1) und Zuelzer und Sonnenschein (1) schon einige Jahre vorher in Leichenteilen alkaloidartige Stoffe gefunden hatten.

Selmi gab diesen Fäulnisbasen den noch jetzt üblichen Namen Ptomaine (griechisch: *ptoma*, der Leichnam). Die chemische Charakte-

risierung eines dieser Stoffe aber gelang erst M. Nencki (7), der im Jahre 1876 aus faulem Leim ein Alkaloid darstellte, das die Zusammensetzung des Collidins $C_8H_{11}N$, einer Base der Pyridinreihe, zeigte, später von Nencki (8) für Isophenyläthylamin oder Methylphenylmethylamin und schließlich (2) für Phenyläthylamin $C_6H_5CH_2CH_2NH_2$ gehalten wurde. Nach den neueren Untersuchungen Spiro's (1) dürfte die letzte Annahme die richtige sein. Eine gründliche Erforschung der Ptomaine begann erst mit den Arbeiten L. Brieger's (6), der eine große Anzahl solcher aus faulenden Stoffen rein dargestellt hat. Weitere Arbeiten haben auf diesem Gebiete Gautier und Étard (1), Bocklisch (1), Guareschi und Mosso (1), Garcia (1) u. a. m. geliefert. Eine Zusammenstellung der umfangreichen Literatur findet man bei Jacquemart (1) und im Lehrbuch der organischen Chemie von Roscoe-Schorlemmer (1).

Es hat sich ergeben, daß die bei der Fäulnis entstehenden basischen Stoffe ihrer chemischen Konstitution nach verschiedenen Gruppen angehören und daß sie teils sehr giftig, teils harmlos sind. Auch bei der Zersetzung anderer stickstoffhaltiger, nicht eiweißartiger Stoffe durch Bakterien entstehen einige dieser Verbindungen und Brieger hat daher die Ptomaine ganz allgemein als basische Erzeugnisse der Lebenstätigkeit der Bakterien bezeichnet. Aber auch diese Begriffsumgrenzung erweist sich als zu eng, seitdem man nachgewiesen hat, daß Ptomaine auch im Stoffwechsel der höheren Pflanzen und Tiere entstehen. Ferner rechnet man einige basische Fäulnisstoffe wie Indol und Skatol gewöhnlich nicht zu den Ptomainen. Am besten ließe man daher die nicht mehr sinnentsprechende Bezeichnung Ptomaine ganz fallen. Völlig überflüssig ist der von Gautier (2) für basische Stoffe des tierischen Stoffwechsels eingeführte Name Leukomaine. Wenn die Ptomaine hier dennoch getrennt von den übrigen Erzeugnissen der Fäulnis besprochen werden, so ist dies vom geschichtlichen Standpunkt berechtigt, da sie in der Entwicklung der Lehre von den Krankheiten eine bedeutsame Rolle gespielt haben.

Für eine wichtige Gruppe der Ptomaine ist die Muttersubstanz das im Tier- und Pflanzenkörper reichlich enthaltene Lecithin. Nach den Untersuchungen von Ruata und Caneva (1) zerfällt es bei der spontanen Fäulnis, sowie unter Einwirkung des *Bacterium prodigiosum*, des *Bacillus mesentericus* und einiger Vibrionenarten, in Fettsäuren, Glycerinphosphorsäure und eine Base, das Cholin, $CH_2(OH)\cdot CH_2\cdot N(CH_3)_3OH$, das von Carbone (1) in Fleischkulturen des *Bacterium vulgare*, von Emmerling und Reiser (1) auch bei der Zersetzung des Leimes durch *Bacterium fluorescens liquefaciens* gefunden worden ist, ferner auch in manchen Pflanzensamen vorkommt. Es ist nur in großen Mengen giftig. Durch Oxydation entstehen aus ihm zwei weitere basische Verbindungen, das Muscarin $(CH_3)_3OH\cdot N\cdot CH_2\cdot CH\cdot(OH)_2$, und das Betain, $COOH\cdot CH_2\cdot N(CH_3)_3OH$. Ersteres ist vermutlich von Brieger und Gautier in faulendem Fischfleisch beobachtet worden. Nach den Untersuchungen von Schmiedeberg in Gemeinschaft mit Koppe (1) und Harnack (1) ist es auch der giftige Stoff des Fliegenpilzes (*Amanita muscaria*). Doch verhält sich das synthetisch dargestellte Muscarin in betreff seiner Giftigkeit anders als das Pilzmuscarin. Nach neueren Untersuchungen von Harmsen (1) scheint auch die Fliegenpilzvergiftung nicht durch Muscarin, sondern durch ein andersartiges Gift hervorgebracht zu werden. Das Betain ist von Brieger in faulenden Miesmuscheln, von Emmerling (2) bei der Zersetzung des Weizenklebers durch *Bacterium vulgare* und in Ge-

meinschaft mit Reiser (1) bei der der Gelatine durch *Bacterium fluorescens liquefaciens* gefunden worden. Andererseits ist es ein Bestandteil vieler Pflanzen. Eine andere, sich vom Cholin durch Abspaltung von einem Molekül Wasser ableitende, bei der Fäulnis häufig beobachtete Base ist das sehr giftige Neurin, $CH_2{=}CH \cdot N(CH_3)_3OH$, das vermutlich aus dem Cholin entsteht.

Von **Basen der aliphatischen Reihe** werden außer den genannten bei der Fäulnis stets die Amine einfachster Konstitution, das Methyl-, Dimethyl-, Trimethylamin und einzelne der höheren Homologen erzeugt; giftige Eigenschaften kommen ihnen nicht zu. Ferner entstehen oft Verbindungen aus der Reihe der Diamine, wie das Aethylendiamin, das Putrescin, Cadaverin, Neuridin und Saprin. Das Putrescin ist nach den Untersuchungen von Ladenburg (1), der es zuerst synthetisch darstellte, Tetramethylendiamin, $NH_2(CH_2)_4NH_2$, das Cadaverin Pentamethylendiamin $NH_2(CH_2)_5NH_2$. Letzterem sind Neuridin und Saprin isomer. Giftig sind diese Stoffe nur in sehr großen Gaben. Baumann und von Udránszky (1) haben angenommen, daß sie bei der Fäulnis synthetisch aus den Monaminen durch Oxydation entstehen. Wahrscheinlich aber sind sie echte Abbaustoffe, da Ellinger (2) nachgewiesen hat, daß einige der primären Spaltungsprodukte des Eiweißmoleküls, das Lysin, $NH_2(CH_2)_4CH(NH_2)CO_2H$, und das dem Arginin nahestehende Ornithin, $NH_2(CH_2)_3CH(NH_2)CO_2H$, bei der Fäulnis unter Abspaltung von Kohlensäure in Cadaverin bzw. Putrescin übergehen. Auch die Entstehung mancher Monamine wird man sich auf diese Weise vorstellen können, z. B. die des Aethylamins aus dem Glycocoll, während andere ihre Muttersubstanz vermutlich im Cholin oder Betain haben werden. Als letzter Vertreter der aliphatischen Ptomaine sei das giftige Methylguanidin, $(NH_2)(NH)C \cdot NH(CH_3)$, genannt, das von Brieger u. a. in Zuchten des *Vibrio cholerae* gefunden worden ist.

Von **Basen der aromatischen Reihe** wurde das von Nencki, sowie von Jeanneret (1) bei der Fäulnis des Leimes entdeckte Phenyläthylamin schon erwähnt. Die entsprechende, sich vom Tyrosin ableitende Base, das p-Oxyphenyläthylamin, $(OH)C_6H_4 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot NH_2$, ist bei der Fäulnis noch nicht, dagegen bei der Zersetzung des Caseins in reifendem Käse beobachtet worden, worüber das 10. Kapitel des II. Bandes einzusehen ist. Eine andere Gruppe der Ptomaine besteht aus Abkömmlingen der Pyridinreihe. Emmerling (2) hat bei der Zersetzung von Blutfibrin durch *Streptococcus pyogenes* ein Collidin, Oechsner de Coninck (1), Gautier und Etard (1), Guareschi und Mosso (1) haben andere nicht näher charakterisierte Basen aufgefunden. Nencki ist geneigt, anzunehmen, daß diese Basen synthetisch aus dem Tyrosin entstehen. Möglich erscheint es auch, daß sie sich aus den Diaminen und Diaminosäuren bilden, nachdem Ladenburg auf chemischem Wege aus dem Pentamethylendiamin das Piperidin hat darstellen können. Auch die in neuester Zeit von Ellinger (1) beobachtete Ueberführung der Indolaminopropionsäure in ein Chinolinderivat im Tierkörper läßt ähnliche Synthesen bei der Fäulnis möglich erscheinen.

Ueber die chemische Natur einer großen Anzahl anderer Ptomaine ist Sicheres nicht bekannt.

§ 28. Die Toxine.

Gleiche und ähnliche Ptomaine wie in faulenden Stoffen hat BRIEGER (7) auch in den Zuchten verschiedener krankheitserregender Spaltpilze, wie des *Bacterium typhi*, des *Bacillus tetani* und des *Vibrio cholerae*, gefunden. Man war anfangs zu glauben geneigt, daß diese Stoffe die 5 Ursache der bei den Krankheiten auftretenden Vergiftungserscheinungen seien. Indessen machten sich gegen diese Annahme bald Bedenken geltend, da die aus den Zuchten dieser Spaltpilze dargestellten Ptomaine verhältnismäßig schwache Gifte waren, und es nicht gelang, an Versuchstieren mit ihnen die für das Bild der betreffenden Krankheiten charakte- 10 ristischen Erscheinungen hervorzurufen.

In der Tat hat man seitdem entdeckt, daß die Bakterien noch andere Gifte erzeugen, die an Furchtbarkeit der Wirkung alle bis dahin bekannten weit übertreffen. So wiesen ROUX und YERSIN (1) in den durch Filtration von den Bakterien völlig befreiten Zuchten des *Bacillus* 15 *diphtheriae*, KITASATO (2) in denen des *Bacillus tetani* gelöste Gifte nach, die, empfänglichen Tieren einverleibt, das typische Bild der Diphtherie und des Wundstarrkrampfes hervorriefen, sich aber von den Ptomainen durchaus unterschieden. Diese neuen Gifte, die man jetzt allgemein **Toxine** nennt, während man für die früher von BRIEGER so genannten 20 giftigen Vertreter der Ptomaine diese Bezeichnung (Toxine) fallen gelassen hat, sind, wie die Enzyme, denen sie in vieler Beziehung ähneln, Sekrete der Bakterien. Es sind hochmolekulare, in Wasser lösliche Verbindungen. Im Gegensatz zu den beständigen Ptomainen sind sie sehr labil, zersetzen sich in Lösungen allmählich von selbst, büßen bei 25 Temperaturen über 60° sofort ihre Wirksamkeit ein und sind auch gegen Sonnenlicht sehr empfindlich. Chemische Eingriffe auch der gelindesten Art, nach SIEBER (1) schon die mancher tierischer und pflanzlicher Oxydasen, beeinträchtigen ihre Giftigkeit sehr. Durch Fällung der Zuchtflüssigkeiten mit Alkohol oder verschiedenen Neutralsalzen 30 können die Toxine, mit anderen Stoffen eiweißartiger Natur gemischt, als amorphes Pulver erhalten werden. Eine weitere Reinigung läßt sich durch Dialyse erreichen, da tierische Membranen für sie nicht durchgängig sind. Sie rein darzustellen ist bisher nicht gelungen. Da sich die eiweißartigen Stoffe der Zuchtflüssigkeiten von den Toxinen nicht 35 trennen ließen, so hat man diese letzteren einige Zeit für Eiweißstoffe gehalten, und BRIEGER und FRÄNKEL (1) haben daher für sie die Bezeichnung **Toxalbumine** vorgeschlagen. Für die Eiweißnatur schienen auch die Ergebnisse einiger Versuche USCHINSKY's (1) zu sprechen, nach denen *Bacillus tetani* auch in eiweißfreier Nährlösung Toxine und Eiweiß- 40 stoffe erzeugen soll, eine Angabe, deren Richtigkeit allerdings von BRIEGER (8), auch in Gemeinschaft mit COHN (1) sowie von HAYASHI (1) bestritten worden ist. BRIEGER hat dann mit COHN (1) und BOER (1) die Fällungsverfahren so vervollkommnet, daß er Tetanus- und Diphtherietoxinpräparate herstellen konnte, die keinerlei Reaktionen auf 45 eiweißartige Stoffe mehr gaben. Eine Stütze für die Anschauung, daß die Bakterientoxine nicht Eiweißstoffe sind, bringen auch die Untersuchungen von JACOBY (1) und von HAUSMANN (1) an den den Bakterientoxinen in chemischer und physiologischer Beziehung durchaus gleichenden Toxinen höherer Pflanzen, dem Abrin aus *Abrus precatorius* und 50 dem Ricin aus *Ricinus communis*. Diese sogenannten **Phytotoxine**

konnten durch geeignete Behandlung mit Pepsin eiweißfrei dargestellt werden, ohne an Giftigkeit zu verlieren. Auch die Versuche, die Nencki (1) mit seinen Schülern Sieber und Schumoff-Simanowski (1), sowie diese allein (1), ferner Fermi und Pernossi (1) über die Einwirkung verschiedener proteolytischer Enzyme auf Bakterientoxine und Phytotoxine ausgeführt haben, scheinen dafür zu sprechen, daß sie nicht eiweißartige Stoffe sind.

Die Toxine sind vermutlich nicht einheitliche Körper sondern bestehen nach den Feststellungen von Ehrlich (1), Madsen (1) u. a. wieder aus mehreren Komponenten, die sich durch den Grad ihrer Giftigkeit und auch durch die Art der Einwirkung auf den Organismus unterscheiden. Auch für das Ricin hat Jacoby (2) ähnliche Verhältnisse nachgewiesen.

In physiologischer Beziehung sind die Toxine dadurch von anderen Giften grundsätzlich verschieden, daß sie streng spezifisch nur auf gewisse Tierarten und auf gewisse Zellen wirken und daß die von ihnen hervorgerufenen Vergiftungserscheinungen erst eine gewisse Zeit nach der Einverleibung in den Körper zutage treten. Man nennt diese für die einzelnen Toxine charakteristische Zeitdauer die *Inkubationsperiode*. Sowohl die Spezifität der Wirkung wie die Inkubationszeit der Toxine entsprechen genau denen der sie erzeugenden Krankheitserreger. Ebenso verhalten sich die schon genannten Phytotoxine, das Ricin, Abrin, Crotin, Robin und einige Zootoxine, wie das der Schlangen und des Aal- und Muränenblutes.

Der Körper der Tiere und des Menschen steht den Bakterientoxinen nicht wehrlos gegenüber. Kleinere Mengen kann er unschädlich machen. Ueberwindet er eine Intoxikation, so ist er hinfort gegen größere Mengen desselben Toxins unempfindlich; er ist *immun* geworden. Durch wiederholte Einverleibung langsam steigender Mengen Toxin kann man empfängliche Tiere an verhältnismäßig ungeheure Gaben gewöhnen. Diese Widerstandsfähigkeit verdanken sie, wie zuerst Behring nachwies, bestimmten im Serum gelösten Stoffen, welche das Toxin binden, ohne es aber zu zerstören. Man nennt sie **Antitoxine.** Auch im normalen Serum sind sie zuweilen in geringen Mengen vorhanden und bilden dann eine der Ursachen der natürlichen Immunität. Ihre entgiftende Wirkung erstreckt sich nur auf das Toxin, durch das sie im Körper erzeugt worden sind. Ehrlich hat gezeigt, daß die Bindung von Toxin und Antitoxin wie eine chemische Reaktion in ganz bestimmten Mengenverhältnissen (Gesetz der Multipla) erfolgt. Doch scheint bei der Sättigung mancher Toxine mit Antitoxinen, deren Bindung eine lockerere ist, ein dissoziierter Gleichgewichtszustand einzutreten, so daß neben der Verbindung gleichzeitig beide Komponenten vorhanden sind.

Die Einwirkung von Antitoxin auf Toxin hat Ehrlich zu einer Hypothese über den chemischen Aufbau der Toxine geführt. Er nimmt an, daß im Toxinmolekül zwei voneinander unabhängige Atomgruppen bestehen. Von ihnen besitzt die eine (die haptophore) eine große spezifische Verwandtschaft zu Atomgruppen des Protoplasmas bestimmter Zellen des lebenden Körpers und fügt sich in sie leicht ein, wie Schlüssel und Schloß nach dem für die spezifische Wirkung der Enzyme von E. Fischer aufgestellten Vergleich. Die andere (die toxophore) ist die Ursache der spezifischen Giftwirkung, die sich erst nach der Verkettung des Toxins mit der haptophoren Gruppe des Zellprotoplasmas offenbart. Fehlt im Protoplasma eines Organismus eine die haptophore Toxingruppe

bindende Atomgruppe, so ist er gegen das Toxin und seinen Erzeuger immun. Die haptophore Gruppe des Toxins ist ziemlich stabil, die toxophore sehr labil. Wird sie durch geringfügige Eingriffe verändert, so entstehen ungiftige Stoffe, die **Toxoide**, die noch die haptophore Gruppe unverändert enthalten. Die von EHRLICH vermutete enge chemische Verwandtschaft zwischen den Protoplasmateilen bestimmter Körperzellen und der haptophoren Gruppe des Toxins ist durch die Versuche von WASSERMANN und TAKAKI (1), von MILEHNER (1) und von MARX (2) experimentell erwiesen worden, denen es gelang, das nur auf die großen Nervenzentren wirkende Toxin des *Bacillus tetani* durch zerriebenes Gehirn, nicht aber auch durch andere Organteile, zu neutralisieren. Werden die haptophoren Gruppen des Zellplasmas durch die verwandten des Toxins gebunden, so bemüht sich die Zelle, diesen Verlust durch Neubildung haptophorer Gruppen zu ersetzen. Bei der Immunisierung mit steigenden Toxinmengen wird der Körper, wie EHRLICH sich ausdrückt, gewissermaßen auf einen Ersatz der durch das Toxin stets in Anspruch genommenen haptophoren Gruppen der Zellen „trainiert", und er erzeugt sie schließlich in solchem Uebermaß, daß sie der Zelle zuviel werden und diese sie in die Blutbahn abstößt. Solche frei kreisenden haptophoren Gruppen der Zellen sind nach EHRLICH die Antitoxine. Sie schützen den Körper, indem sie die haptophore Gruppe des Toxins besetzen und ihm so die Verbindung mit den empfindlichen Zellen unmöglich machen. Es steht mit dieser Hypothese gut im Einklang, daß man auch durch Immunisierung mit Toxoiden, die nur die haptophore Gruppe des Toxins besitzen, Antitoxine erzeugen kann. Ueber die chemische Natur der Antitoxine ist nichts bekannt.

Manche Toxine besitzen anscheinend außer der haptophoren und der toxophoren Gruppe noch andere Atomgruppen spezifischer Wirkung. Zu ihnen gehören die sog. Bakterien-Hämolysine, die außer der giftigen Wirkung noch eine enzymartige auf die Wandung roter Blutkörper ausüben, so daß diese für den Blutfarbstoff durchlässig wird.

Nicht alle krankheitserregenden Bakterien erzeugen diese aus der Bakterienzelle in die umgebende Flüssigkeit austretenden Toxine, die man deshalb **Ectotoxine** genannt hat. So hat man bei dem *Bacterium typhi*, dem *Vibrio cholerae* und anderen Arten bisher mit Sicherheit nur Toxine nachweisen können, welche, wie die Endoenzyme, an das Innere der Bakterienzelle gebunden sind. Diese als **Endotoxine** bezeichneten Gifte kann man in Lösung nur erhalten, wenn man die Bakterien zerstört, sei es, wie MACFADYEN und ROWLAND (1) getan haben, durch Zerreiben der gefrorenen, oder nach CONRADI (1) durch Selbstverdauung der durch Chloroform getöteten Zellen. Auch die Endotoxine sind sehr labile Stoffe, über deren chemische Natur nichts Näheres bekannt ist. Antitoxine hat man bisher mit den Endotoxinen nicht darstellen können, so daß es scheint, als ob ihr Aufbau ein anderer als der der Ectotoxine ist. Ganz neuerdings wollen MACFADYEN und ROWLAND (1) aber auch mit den aus den zertrümmerten Zellen ausgezogenen Endotoxinen Antikörper erhalten haben. Dagegen existieren in den Kulturflüssigkeiten des *Vibrio cholerae* und des *Bacterium pyocyaneum* Gifte, die Antitoxine erzeugen, für die aber das Gesetz der Multipla nur in engen Grenzen gilt.

Erwähnt sei, daß auch die durch Auspressen der Bakterienzellen erhaltenen Proteinstoffe selbst harmloser Arten bei Einverleibung unter die Haut von Tieren Eiterungen hervorrufen. Doch haben auch andere fremdkörperliche Proteinstoffe dieselbe Wirkung.

Die Antitoxine sind nicht die einzigen Stoffe, die durch die Einwirkung der Bakterien auf den tierischen Körper entstehen. Auch die Stoffe des Bakterienleibes erzeugen **Antikörper.** Bringt man geringe Mengen Serum eines Tieres, das mit Kulturen des *Bacterium coli commune* immunisiert worden ist, in eine Bouillonkultur dieses Pilzes, so hört die Schwärmbewegung der Bakterien allmählich auf, sie ballen sich zu kleinen Klumpen zusammen, die zu Boden sinken, und die anfangs trübe Flüssigkeit wird vollständig klar. Die Stoffe, die diese Fällung der Bakterien bewirken, heißt man **Agglutinine.** Sie entstehen auch, wenn man die Immunisierung mit bei 50° getöteten Bakterien vornimmt. Sie wirken wie die Antitoxine streng spezifisch, d. h. sie agglutinieren in sehr starken Verdünnungen nur die Zellen jener Bakterienspezies, mittelst der sie erzeugt worden sind. In etwas stärkerer Konzentration agglutinieren sie auch nahe verwandte Arten, niemals aber fernstehende. Gruber und Durham haben zuerst auf die Bedeutung der Agglutinine für die Differentialdiagnose zwischen sehr ähnlichen Spezies oder Rassen hingewiesen. Das Agglutinationsphänomen gestattet, die feinsten Unterschiede im chemischen Aufbau des Bakterienproteins zu erkennen, deren Nachweis sich jedem chemischen Verfahren entzieht.

Im Serum von Tieren, die mit flüssigen Bakterienkulturen immunisiert werden, entstehen ferner Stoffe, die in dem keimfreien Filtrat der Bakterienkulturen Niederschläge erzeugen. Sie heißen **Präcipitine.** Bei der Immunisierung mit lebenden Bakterien entstehen ferner die sog. **Bakteriolysine,** die in Verbindung mit den proteolytischen Enzymen des Blutes (den Alexinen) eine spezifische lösende Wirkung auf die betreffenden Bakterien ausüben. Man hat später entdeckt, daß die Bildung der Antikörper nicht eine allein gegen die Bakterien und ihre Sekrete gerichtete Schutzmaßregel des lebenden Körpers ist, sondern daß sie ganz allgemein erfolgt, wenn ihm fremdkörperliche Zellen oder Eiweißstoffe auf unnatürlichem Wege (z. B. durch Einspritzung in die Blutbahn oder unter die Haut) einverleibt werden. Bordet hat zuerst gezeigt, daß im Serum eines Tieres, dem rote Blutkörper einer anderen Tierart eingespritzt worden sind, spezifische Hämolysine und Hämoagglutinine entstehen. Werden Lösungen körperfremder Eiweißstoffe in die Blutbahn eingeführt, so entstehen spezifisch wirkende Präcipitine. Bordet erhielt solche im Jahre 1899 zuerst für das Casein verschiedener Milcharten. Wassermann und Schütze, Uhlenhut, Jess u. a. haben sie auch mit den Eiweißstoffen des Blutserums, des Fleisches usw. erzeugt. Mit den diese Präcipitine enthaltenden sog. spezifischen Seris ist ein Reagenz von größter Feinheit geschaffen, welches die sichere Unterscheidung der Milch, des Blutes, des Fleisches verschiedener Tierarten und ihren Nachweis nebeneinander gestattet, und das der Nahrungsmittel- und Gerichtschemiker in Zukunft sicherlich oft verwenden wird. Es kann an dieser Stelle nicht weiter auf die Antikörper eingegangen werden, da sie zunächst nur in der pathologischen Mykologie und der allgemeinen Physiologie eine wichtige Rolle spielen. Erwähnt werden mußten sie aber auch hier, denn sie lehren neue, eigenartige Berührungspunkte zwischen Mykologie und physiologischer Chemie kennen. Wer sich über diese Stoffe eingehender unterrichten will, der sei auf das schon öfter erwähnte Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann und auf die die Toxine, Antitoxine und Bakteriolysine berücksichtigenden Werke von Oppenheimer (1 u. 2) verwiesen. Ein sehr anschauliches Bild gibt auch die kürzere Zusammenstellung von Aschoff (1). Ueber die

für den Nahrungsmittel- und Gerichtschemiker wichtigen spezifischen Sera findet man das Wichtigste bei Piorkowski (2).

§ 29. Bakteriengifte in Nahrungsmitteln.

Die nach dem Genusse von Nahrungsmitteln tierischer Herkunft zuweilen auftretenden Vergiftungen sind meist auf Bakteriengifte zurückzuführen. Besonders häufig sind die Vergiftungen durch Fleischwaren, die sich nach Ursache und Erscheinung in zwei streng unterschiedene Gruppen ordnen lassen. In die eine gehören die sog. **Fleischvergiftungen**, bei denen die Erkrankung sich vorwiegend in einer schweren, oft tödlichen Entzündung des Darmkanales äußert. In Fleisch, das diese Art der Vergiftung hervorruft, findet man entweder *Bacterium vulgare* oder Verwandte des *Bacterium coli*. *Bacterium vulgare* gelangt vermutlich erst nach dem Tode in das ursprünglich gesunde Fleisch. Beim Genusse erscheint dieses meist noch unverändert und zeigt keine Merkmale der Fäulnis. Die Ursache der Vergiftung sind wohl weniger die von dem Pilz erzeugten Ptomaine, unter denen Carbone (1) Cholin, Aethylendiamin, Gadinin, Trimethylamin gefunden hat, als Toxine. Nach den Untersuchungen Meyerhof's (1) und Pfuhl's (1) bildet er vorwiegend Endotoxine, in geringerem Maße Ectotoxine. Durch kurzes Kochen werden sie zerstört. Bei längerer Fäulnis scheinen allerdings, wie Versuche Scholl's (1) zeigen, im Fleisch auch beständigere Gifte zu entstehen, die erst durch anderthalbstündiges Kochen unschädlich gemacht werden können. Durch *Bacterium vulgare* verursachte Fleischvergiftungen sind von Levy (1), Jaeger (1), Poels und Dhont (1), Silberschmidt (1), Wesenberg (1), Glücksmann (1), Pfuhl (1) und Schumburg (1) beschrieben worden.

Während das von *Bacterium vulgare* befallene, äußerlich unveränderte Fleisch, wenigstens im ungekochten Zustande, so giftig wirkt, wird stärker verfaultes, bereits ekelhaft riechendes Fleisch nicht nur von den auf niedriger Kulturstufe stehenden Völkerschaften Asiens und Polynesiens, wie Navarre (1) und Smolenski (1) anführen, sondern auch von dem europäischen Kulturmenschen in großen Mengen ohne Schaden verzehrt. Auch der sog. Gärströmling, eine in den unteren Klassen Norwegens sehr beliebte Fischkonserve, über die man im 22. Kapitel des II. Bandes nähere Angaben findet, ist nach Mörner's (1) Untersuchungen das Erzeugnis einer unter Luftabschluß in schwacher Salzlake vor sich gehenden abgekürzten Fäulnis. In der Tat hat Brieger (9) beobachtet, daß giftige Stoffe nur in den ersten Abschnitten der Fäulnis entstehen, später aber wieder verschwinden. Nicht verwechseln darf man diese faulige Zersetzung mit der sog. Reifung frisch geschlachteten Fleisches und mancher konservierten Fische, die den zähen Muskeln erst die für den Genuß nötige Mürbe verleiht. Sie ist eine zuerst von E. Salkowski beobachtete Zersetzung des Fleischeiweißes in Albumosen, Peptone, Amine durch die körpereigenen proteolytischen Enzyme. Diese Reifung nennt man Autolyse. Nähere Angaben über sie werden in dem eben zuvor bezeichneten Kapitel gebracht werden.

Häufiger als *Bacterium vulgare* sind Verwandte des *Bacterium coli* die Urheber der Fleischvergiftungen. In diesen Fällen stammt das Fleisch stets von Tieren, die an gewissen entzündlichen Krankheiten des Darmes oder der Geschlechtsteile gelitten haben und deshalb not-

geschlachtet worden sind. Es enthält die betreffenden Krankheitserreger in großer Zahl. Diese sind anscheinend alle mit dem schon im § 23 erwähnten *Bacterium paratyphosum* nahe verwandt oder identisch. Eine besonders häufig beobachtete Art ist der von Gärtner (1) bei der ersten einwandsfrei untersuchten Fleischvergiftung in Frankenhausen im Jahre 1888 aufgefundene *Bacillus enteritidis*, der später auch von Karliński (1), van Ermengem (1), Günther (1), Fischer (1) beobachtet worden ist. Andere nahestehende Arten sind durch Gaffky und Paak (1), Basenau (1), Kaensche (1), Herrmann (1), Trautmann (1) u. a. beschrieben worden. Nach Beobachtungen von Levy und Jacobsthal (1) scheint auch das *Bacterium typhi* unter Umständen bei Tieren als Erreger entzündlicher Erkrankungen auftreten zu können. So erklären sich wohl die Typhusepidemien, die man zuweilen nach dem Genuß von Fleischwaren beobachtet hat. Die Bakterien der Fleischvergiftungen aus der Coligruppe erzeugen Toxine, und zwar nach den Untersuchungen Brieger's und Kempner's (1) sowie Macfadyen's und Rowland's (1), teils Endotoxine teils Ectotoxine. Manche von ihnen bilden anscheinend auch kochbeständige Gifte. Ihre gesundheitsschädigende Wirkung ist wohl vorwiegend auf diese Giftstoffe zurückzuführen, die sie teils schon in dem betreffenden Nahrungsmittel, teils wohl auch innerhalb des menschlichen Körpers erzeugen.

Von den Fleischvergiftungen streng unterschieden nach Ursache und Erscheinung sind die sog. **Wurstvergiftungen,** die meist tödlich verlaufen und besonders nach dem Genuß von Würsten aus leicht zersetzlichen Stoffen, aber auch von Schinken und anderen Fleischgerichten beobachtet worden sind. Die Vergiftungserscheinungen treten in diesem Falle nur in den großen Nervenzentren auf und äußern sich in Sehstörungen, Schluckbeschwerden, Lähmungen usw., während der Darmkanal nicht angegriffen wird. Das gesamte Krankheitsbild ist als **Botulismus** bezeichnet worden. Maass (1) und A. Ehrenberg (1) haben aus verdorbenen Würsten eine Anzahl Ptomaine dargestellt, die aber zum Botulismus keine Beziehungen haben. Die Fleischwaren, welche Botulismus erzeugen, erscheinen äußerlich bis auf einen etwas scharfen, ranzigen Geruch unverändert und zeigen keine Fäulniserscheinungen. Als Urheber der Wurstvergiftungen hat van Ermengem (2) einen obligat anaeroben, sporenbildenden Spaltpilz, *Bacillus botulinus*, erkannt, der auch von Römer (1) in giftiger Wurst, von Kempner (1) in Schweinekot wieder gefunden worden ist. Der *Bacillus botulinus* ist nicht pathogen und vermehrt sich im lebenden Organismus nicht, sondern entfaltet seine Wirksamkeit nur durch ein Ectotoxin, das er in den befallenen Fleischwaren erzeugt. Dieses Gift gleicht in seinen Eigenschaften und in der Furchtbarkeit seiner Wirkung ganz dem Toxin des *Bacillus tetani* und verbindet sich auch wie dieses lediglich mit den Zellen der Hauptnervenzentren, wie die Untersuchungen von Marinesco (1), von Kempner und Pollack (1) und von Schepilewsky (1) gezeigt haben. Kempner (1) hat mit ihm auch ein antitoxisches Serum erzeugen können.

Der *Bacillus botulinus*, ein Stäbchen von 4 bis 9 μ Länge und 0,9 bis 1,2 μ Dicke, gehört zu den anaeroben Buttersäurebazillen. Er wächst nur in zucker- und peptonhaltigen Nährböden unter starker Entwicklung von Wasserstoff und Kohlensäure, verändert Milch aber nicht. Die meist am Ende der Stäbchen entstehenden ovalen Sporen werden schon durch halbstündiges Erwärmen auf 80° C getötet. Da *Bacillus botulinus* auch schon bei einem Gehalt von 6 Proz. Kochsalz sein Wachstum im Fleisch

einstellt, so ist es eine leichte Aufgabe, durch sorgfältige Behandlung der Fleischwaren diese furchtbaren Vergiftungen zu verhindern. Auch in vegetabilischen Nahrungsmitteln tritt *Bacillus botulinus*, wenn auch seltener, als Giftbildner auf. Landmann (1) berichtet über eine sehr folgenschwere Vergiftung mit vielen Todesfällen durch Bohnen, die von diesem Pilz befallen waren.

Vielleicht ebenfalls durch den *Bacillus botulinus* oder einen ihm ähnlichen Pilz wird das Gift der sog. **Fischvergiftungen** erzeugt, deren Erscheinung und Verlauf dem Botulismus völlig gleichen, so daß die für sie gebräuchliche Bezeichnung des Ichthyosismus am besten fiele. Die Fischvergiftung hat wie die Wurstvergiftung mit der Fäulnis nichts zu tun, sondern tritt stets nach dem Genuß äußerlich unveränderter, konservierter Fische ein. Vielleicht auch spielen bei den Fischvergiftungen, wie bei den Fleischvergiftungen, gewisse bakterielle Krankheiten eine Rolle, als deren Urheber von Fischel und Enoch (1), Wyss (1), Babes und Riegler (1), Sanarelli (1), Arustamoff (1), Emmerich und Weibel (1), Sieber und Schumoff (2) bisher meist dem *Bacterium vulgare* nahe verwandte Arten aufgefunden worden sind. Eine Zusammenstellung der gesamten Literatur darüber findet man bei Smolenski (1).

Ebensowenig geklärt sind zurzeit die Ansichten über die verschiedenen Formen der **Muschelvergiftung**. Ihre schwerste Form, die sog. paralytische, die sich in Lähmungen äußert, ist nach den Untersuchungen von Wolff (2), Brieger (10), E. Salkowski (5) und Thesen (1) nicht auf Bakterientoxine sondern auf ein Ptomain, das Mytilotoxin, zurückzuführen. Dagegen haben Galeotti und Zardo (1) aus giftigen Miesmuscheln und *Murex brandatus* Bakterien züchten können, die anscheinend zur der Gruppe der Proteus- oder Colibakterien gehören und teils lösliche teils an die Zelle gebundene Giftstoffe erzeugen. Einen Fall einer Vergiftung durch Austern, der unter den Erscheinungen des Botulismus verlief, beschreibt A. Brosch (1).

Ueber Vergiftungen durch Hummer findet man einige Angaben bei Simon (1).

Die Gifte, welche durch die Lebenstätigkeit von Spaltpilzen in **Eiern** entstehen, sind noch wenig untersucht. Einige Beobachtungen darüber bringen Glasmacher (1), Scholl (1), Bonhoff (1) und Grigorjew (1).

Betreffs der Giftstoffe, welche von den Bakterien und anderen Pilzen in der Milch, dem Käse und in Futterartikeln erzeugt werden, vergleiche man die Angaben im 13. und im 21. Kapitel des II. Bandes.

Der Kuriosität halber sei erwähnt, daß manche wilden Völker von den Bakterientoxinen einen praktischen Gebrauch machen. Le Dantec (1) teilt mit, daß die Bewohner der Neuen Hebriden ihre Pfeile mit dem die Sporen des *Bacillus tetani* enthaltenden Sumpfschlamme bestreichen.

§ 30. Erkennung, Bestimmung und Darstellung der proteolytischen Enzyme der Bakterien.

Man darf es heute als eine feststehende Tatsache betrachten, daß die Assimilation der Nährstoffe und damit das ganze Zelleben aufs innigste mit der Gegenwart von Enzymen verknüpft ist, welche eine Spaltung der Nährstoffe herbeiführen und sie damit erst in den für die

Zelle verwertbaren Zustand überführen. Wie der tierische Organismus in seinem Darmkanal und auch, wie die Untersuchungen über die Autolyse ergeben haben, in der Gesamtheit seines Zellenstaates über eine Anzahl von Enzymen verfügt, die ihm die Verwertung der Nährstoffe ermöglichen, so finden wir auch im Pflanzenreiche und im besonderen bei den niederen Pilzen eine ganze Reihe solcher Enzyme, die für das Leben der einzelligen Organismen eine entscheidende Bedeutung besitzen. Beinahe alle Mikroorganismen benötigen stickstoffhaltige Verbindungen zum Aufbau und zur Erhaltung ihrer Leibessubstanz, zum Zwecke ihrer Vermehrung. Eine große Zahl von Mikroorganismenarten ist imstande, ihren Bedarf an Stickstoff aus relativ einfach zusammengesetzten stickstoffhaltigen Verbindungen zu decken und Asparagin, Amidosäuren, einzelne selbst Nitrate oder atmosphärischen Stickstoff zu verwerten. Aber einerseits kommt diese Fähigkeit nicht allen Mikroorganismen zu, andrerseits erheischen es schon die natürlichen Lebensbedingungen, unter welchen nicht immer so einfach zusammengesetzte Stickstoffverbindungen vorhanden sind, daß die Mehrzahl der Mikroorganismen auch kompliziertere stickstoffhaltige Moleküle zu zerlegen vermögen. Insbesondere ist es das genuine koagulierbare Eiweiß, welches allenthalben in Form von pflanzlichen und tierischen Resten den Mikroorganismen zur Verfügung steht. Gerade dieses letztere aber würde direkt für die Mikroorganismen nicht verwertbar sein: denn es besitzt nicht die Fähigkeit der Diffusion und kann somit durch die Membran der Zelle auch nicht aufgenommen werden. Die Mikroorganismen müssen also, wenn sie auf Eiweiß als Stickstoffquelle angewiesen sind, dasselbe erst in diffundierbare Verbindungen spalten und sie sind durch die in ihnen enthaltenen oder von ihnen abgesonderten proteolytischen Enzyme dazu befähigt.

Die Erkenntnis, daß die eiweißzersetzende Wirkung der Spaltpilze nicht unmittelbar an das Leben derselben geknüpft sei, sondern von Enzymen ausgehe, ist eigentlich zuerst 1887 in der Arbeit von H. Bitter (1) „Ueber die Fermentauscheidung des Koch'schen Vibrio der Cholera asiatica", die unter H. Buchner's Leitung angefertigt wurde, gegeben. Bitter gelang es, den Nachweis zu erbringen, daß die Verflüssigung der Gelatine und des koagulierten Eiweiß durch den Koch'schen Choleravibrio sowie den Vibrio Finkler-Prior nicht unmittelbar mit der Lebenstätigkeit der Vibrionen zusammenhängt, sondern durch ein von den Vibrionen produziertes, ungeformtes peptonisierendes Enzym vermittelt wird. Aehnliche Beobachtungen konnten kurz darauf Senger (1) und Jerosch (1) machen, und fast gleichzeitig erschienen auch Mitteilungen von Rietsch (1) und Sternberg (1), welche teils die Bitter'schen Angaben bestätigten, teils eine Erweiterung seiner Forschungen brachten. Bald nachher gelang es Salkowski (7), durch Digestion der Hefe mit Chloroform es wahrscheinlich zu machen, daß auch hierbei ein proteolytisches Enzym eine Rolle spiele und die schon von Béchamp und Schützenberger beobachteten Zersetzungen der Hefe hervorrufe. Weiteren Ausbau erfuhr dann die Lehre von den proteolytischen Enzymen der Bakterien vornehmlich durch die Arbeiten von Fermi (1) und seinen Mitarbeitern, sowie durch die Beobachtungen von Hahn (1) über die Endoenzyme. Durch die Fermi'schen Arbeiten wurde namentlich eine bequeme Methode zum Nachweis der proteolytischen Enzyme gegeben, sowie deren Eigenschaften festgestellt, während dem Verfasser und seinem Mitarbeiter Geret (1) mit Hilfe der Buchner-Hahn'schen Preßmethode

der Nachweis gelang, daß es nicht nur Bakterienarten gibt, die proteolytische Enzyme aussondern, sondern daß wahrscheinlich alle Bakterienarten, wie überhaupt jede pflanzliche und tierische Zelle, über solche proteolytische Enzyme verfügen, die aber bei den meisten nur im Innern der Zelle als Endofermente wirksam sind oder aber nur innerhalb der 5 Zellwand die Spaltung der Nahrungsstoffe bewirken. Obgleich dieser Nachweis von HAHN und GERET bisher nur für die Typhus- und Tuberkelbazillen geführt wurde, so ist kein Grund zu der Annahme vorhanden, daß nicht auch andere, nichtverflüssigende Arten über solche Endoenzyme verfügen. 10

Demnach würden also als proteolytische Enzyme der Bakterien zu unterscheiden sein: 1. **Ectoenzyme**, welche von den Bakterien ausgesondert werden und daher nur bei gelatineverflüssigenden Arten nachweisbar sind; 2. **Endoenzyme**, die in der Regel nur nach Zertrümmerung oder Absterben oder pathologischer Veränderung der Zelle 15 festzustellen sind und auch den nicht verflüssigenden Arten zukommen.

Es ist allerdings noch nicht klargestellt, ob nicht vielfach die Gelatineverflüssigung, die als Wirkung von Ectoenzymen imponiert, auch auf Kosten von Endoenzymen zu setzen ist, die infolge Absterbens oder pathologischer Veränderung der Bakterienzellen frei wurden. Eine Be- 20 obachtung von GOTTSCHLICH und WEIGANG (1) weist darauf hin: gerade diejenige Bakterienart, bei welcher eine relativ starke Gelatineverflüssigung stattfindet, der Choleravibrio, zeigt zwar auf unseren gewöhnlichen Nährböden eine starke Vermehrungsfähigkeit, aber Hand in Hand geht damit auch ein rasches Absterben der Bakterien. Unter solchen Um- 25 ständen müssen auch in jeder älteren Kultur eine große Zahl abgestorbener oder bereits pathologisch veränderter Individuen sein, und es ist unzweifelhaft, daß aus solchen auch Endoenzyme austreten können, die nunmehr als Ectoenzyme imponieren. In praxi wird es also schwer sein, stets Endo- und Ectoenzyme zu trennen, und da allem Anschein 30 nach auch ihr Verhalten gegen Temperaturen, Antiseptica etc. nicht wesentlich verschieden ist, so sollen hier beide Enzymgruppen zunächst gemeinsam behandelt werden. Ueber Unterschiede der Darstellung und in der Wirkung siehe weiter unten.

Die Zahl der Bakterienarten, bei denen die Produktion proteoly- 35 tischer Ectoenzyme nachgewiesen ist, ist eine recht beträchtliche. Es seien hier nur der KOCH'sche Choleravibrio, Vibrio FINKLER-PRIOR (BITTER, FERMI), der DENECKE'sche Käsebazillus, *Bacillus Milleri*, der *Bac. subtilis*, *Bac. anthracis*, *Bac. megaterium*, *Bac. pyocyaneus*, *Bac. anthracis* (HANKIN, FERMI), der *Micrococcus prodigiosus*, *Micrococcus ascoformis*, *Micrococcus* 40 *ramosus* angeführt. Noch größer aber ist die Zahl der Bakterienarten, bei denen zwar die Anwesenheit eines solchen Enzyms nicht direkt nachgewiesen ist, indessen einfach aus der gelatineverflüssigenden Wirkung der betreffenden Arten geschlossen werden kann. Diese Bakterienarten sämtlich aufzuführen, würde an dieser Stelle zu weit führen. Es 45 sei nur hervorgehoben, daß namentlich die stark verbreiteten Proteusarten erhebliche Mengen eines solchen Enzyms auszuscheiden pflegen, ferner der *Bac. mesentericus vulgatus* (VIGNAL). Man kann ruhig annehmen — und die tägliche bakteriologische Erfahrung bestätigt es —, daß da, wo nicht gerade mit Reinkulturen einer nicht verflüssigenden Bakterien- 50 art gearbeitet wird, wo also mehrere Bakterienarten gleichzeitig in einer Flüssigkeit suspendiert sind oder an festen Materialien haften, auch immer solche Spezies darunter sind, die ein proteolytisches Enzym aus-

sondern und demgemäß Gelatine zu verflüssigen vermögen. So findet man im Wasser, Boden, in der Luft stets verflüssigende Arten und gerade ihre weite Verbreitung weist den proteolytischen Bakterienenzymen eine bedeutsame Rolle, teils schädlicher, teils nützlicher Natur im Gärungs-5 gewerbe zu. Dabei ist allerdings zu beachten, daß zwischen den einzelnen Stämmen derselben Bakterienart große Differenzen in bezug auf die Menge des produzierten Enzyms bestehen können, daß namentlich auch bei der längeren Züchtung auf künstlichen Nährböden das Verflüssigungsvermögen erheblich sinken kann.

10 **Nachweis:** Die Existenz proteolytischer Enzyme läßt sich sowohl in Reinkulturen, wie in Bakteriengemischen (Faulflüssigkeiten etc.) in verschiedener Weise nachweisen. Alle Methoden zielen darauf ab, die Gegenwart der lebenden Keime auszuschalten oder wenigstens ihre Entwicklung zu hemmen. Dieses Ziel kann man erreichen: 1. Durch Er-15 hitzen der betreffenden enzymhaltigen Flüssigkeit auf 55—60°. Indessen werden hierdurch nicht sicher alle Bakterienarten abgetötet. Andrerseits beweisen Fermi's Versuche, daß es Bakterienenzyme gibt, die schon bei dieser Temperatur vernichtet werden. Dieses Verfahren ist daher als das schlechteste zu bezeichnen. — 2. Durch keimfreies 20 Filtrieren der Flüssigkeit mittelst Ton- oder Kieselgurfilter. — 3. Durch Zusatz von antiseptisch wirkenden Verbindungen. Als solche kommen hauptsächlich in Betracht: Karbolsäure, Salicylsäure, Thymol, Toluol, Natriumfluorid. Vom Sublimat wird man der fällenden Wirkung halber Abstand nehmen, vom Chloroform wegen seiner Flüchtigkeit bei etwas erhöhter 25 Temperatur. Nach eigenen Versuchen kann der Verfasser am meisten das Toluol empfehlen, das stets entwicklungshemmend wirkt und unter allen Antisepticis am wenigsten die Enzymwirkung beeinträchtigt. Die Flüssigkeit muß mit dem Toluol — ca. 5—10 ccm auf 1 Liter Flüssigkeit — gut durchgeschüttelt werden. Als Prüfungsobjekt für die qualita-30 tive proteolytische Wirkung empfiehlt sich am meisten die gewöhnliche, sterilisierte Nährgelatine oder das Fibrin. Fermi versetzt die Gelatine noch mit einem antiseptischen Zusatz (7 Gramm reine Gelatine in 100 Gramm gesättigter wässeriger Thymollösung oder Karbolwasser). Indessen ist dieser Zusatz, wenn die zu untersuchende Flüssigkeit, die 35 in Mengen von 1—2 ccm auf die in Reagenzröhren befindliche starre Gelatine geschichet wird, mit Antisepticis versehen wurde und die Gelatine sterilisiert war, nicht notwendig.

Die proteolytische Wirkung wird hier durch die Verflüssigung der oberen Gelatineschichten erkannt. Statt des gewöhnlichen Fibrins kann 40 man auch Karminfibrin (Grübler, Leipzig) benutzen, das ebenso wie das gewöhnliche Fibrin in der Flüssigkeit suspendiert wird, aber durch die bei Eiweißlösung auftretende rote Färbung der Flüssigkeit leichter den Effekt beurteilen läßt. Für viele Bakterienenzyme dürfte auch Eijkman's (1) Milchagar (Magermilch zu gewöhnlichem Agar wie 1 : 3 45 bis 1 : 6, getrennt sterilisiert) zum Nachweis geeignet sein, das durch caseinspaltende Enzyme aufgehellt wird.

Quantitative Bestimmung: 1. Zur Orientierung über die quantitative Wirkung bei vergleichenden Bestimmungen brauchbar ist die Fermi'sche Methode. In Reagenzgläser von 8 mm Durchmesser werden 50 3 ccm Thymol- oder Karbol-Gelatine (7 proz.) gefüllt. Die Gelatine muß in genau senkrechter Lage erstarren, der obere Rand der Gelatineschicht wird am Glase markiert. Sodann werden 1—2, eventuell auch mehr ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit, gegebenenfalls noch mit antiseptischem

Zusatz, aufgeschichtet, die Gläser bei gleicher Temperatur aufbewahrt und in bestimmten Zeitintervallen die Höhe der verflüssigten Gelatineschicht mit dem Maßstab gemessen. — 2. Für genaue Bestimmungen empfiehlt es sich, Fibrin oder koaguliertes Hühnereiweiß als Prüfungsobjekt zu wählen und die Menge des gelösten Stickstoffes zu bestimmen. Man bringt abgewogene Mengen Fibrin in abgemessene Mengen der enzymhaltigen Flüssigkeit, digeriert bei 37°, erhitzt die Flüssigkeit zum Sieden, neutralisiert genau (zweckmäßig unter Zusatz von 5—10 ccm konzentrierter Kochsalzlösung auf 100 ccm Flüssigkeit), füllt auf ein bestimmtes Volumen auf, filtriert durch trockene Filter und bestimmt in einem aliquoten Teil des Filtrates den Stickstoff nach Kjeldahl. Handelt es sich um eine Enzymlösung, die selbst größere Mengen von koagulierbarem Eiweiß enthält, wie die Preßsäfte aus Bakterien, so ist der Fibrinzusatz unnötig. Man bestimmt einfach vor und nach der Digestion unter Innehaltung des beim Fibrin angegebenen Verfahrens die Menge des in Lösung gegangenen Stickstoffs. Selbstverständlich kann man auch statt dessen die Menge des ungelösten Fibrins oder Eiweiß bestimmen, indem man dasselbe nach Koagulation auf einem gewogenen Filter sammelt, wäscht und wägt. Die hier erwähnten Versuchsanordnungen können in gleicher Weise zum Nachweis der proteolytischen Endoenzyme und der Ectoenzyme benützt werden.

Die Beschreibung der **Darstellung der proteolytischen Enzyme** soll bei den Ectoenzymen beginnen. Die einfachste Methode, um zu relativ reinen Präparaten zu gelangen, ist die Alkoholfällung, die von Rietsch (1) und Fermi angewandt wurde. Will man eine Beimengung von fremden Eiweißkörpern nach Möglichkeit vermeiden, so züchtet man die betreffenden Bakterienarten auf eiweißfreien Nährböden, was aber nicht immer angängig ist: sonst geht man von gewöhnlichen Bouillonkulturen aus. Man fällt die etwa achttägigen Kulturen mit dem 8—10-fachen Volumen Alkohol nach vorhergegangener Konzentration im Vakuum, filtriert den Niederschlag ab und wäscht wiederholt mit absolutem Alkohol, eventuell noch mit Aether und zerreibt den Niederschlag zu einem feinen, trockenen Pulver. Dieses letztere enthält natürlich auch eine Menge anorganischer Salze, die aus der wässerigen Lösung des Pulvers größtenteils durch Dialyse entfernt werden können. Die Enzyme diffundieren nach Fermi (1) nicht. Zweckmäßig gestaltet man die Alkoholbehandlung möglichst kurz, weil sonst die Enzyme geschädigt werden und auch die Wasserlöslichkeit des Niederschlags beeinträchtigt wird. Schonender scheint noch die Fällung mit Aceton zu sein (s. 14. Kap. d. IV. Bds.). Da manche Bakterienarten durch die Alkohol- bzw. Acetonbehandlung nicht getötet werden, so muß man, um die Wirkung lebender Bakterien aus dem Trockenpräparat auszuschalten, gegebenenfalls vor der Konzentration und Alkoholbehandlung die Flüssigkeiten durch Ton- oder Kieselgurfilter keimfrei filtrieren oder aber den völlig trockenen Alkohol- oder Acetonniederschlag auf 120° erhitzen, was ohne wesentliche Schädigung der proteolytischen Enzyme in den meisten Fällen geschehen kann (s. u.). Ganz reine Präparate der Enzyme lassen sich selbstverständlich auf diesem Wege nicht gewinnen, wohl aber aus dem Alkoholniederschlag konzentrierte Enzymlösungen darstellen. Zum Zwecke der Darstellung von proteolytischen Endoenzymen züchtet man größere Mengen von Bakterien auf mit Agar gefüllten Kolleschalen, hebt die feuchten Bakterienmassen mit dem Spatel ab oder spült sie mit Hilfe von steriler Kochsalzlösung ab, die man durch Centrifugieren

entfernt und zum Zwecke des Waschens erneuert, und zerreibt dann die Bakterienmassen mit Quarzsand (5—10 fache Gewichtsmenge) und Kieselgur (viertel bis gleiche Gewichtsmenge), wenn nötig unter Zusatz von etwas Kochsalzlösung. Die Masse wird ausgepreßt (s. 14. Kap. 5 d. IV. Bds.), der erhaltene Preßsaft entweder direkt unter Zusatz von Toluol nach den vorher angegebenen Methoden geprüft oder keimfrei filtriert (weniger ratsam) oder nach Konzentrierung im Vakuum mit Alkohol oder Aceton gefällt.

§ 31. Eigenschaften, Wirkungsweise und Bildungsbedingungen der 10 proteolytischen Enzyme der Bakterien.

Ueber das Verhalten der proteolytischen Enzyme gegen verschiedene **Temperaturen** liegen schon einige Feststellungen vor. Die meisten der proteolytischen Ectoenzyme gehören nicht zu der Klasse der äußerst labilen Enzyme, die, wie die Zymase (Alkoholase), schon durch Erhitzen 15 der Lösung auf 55° vollständig vernichtet werden. Dabei ist allerdings die Prüfungsmethode von wesentlicher Bedeutung, bzw. die Art der Lösung. Erhitzt man einfach alte Bouillon- oder Gelatinekulturen, so muß man sich darüber klar sein, daß hier in der Kultur gebildete Säuren oder Ammoniak bei höherer Temperatur zerstörend auf das Enzym wirken 20 können. Man muß also zum mindesten die Reaktion während der Erhitzung neutral gestalten, kann sie nachher zum Zwecke der Prüfung auf Gelatine wieder leicht alkalisieren. Deswegen sind auch die Fermischen Angaben über die Temperaturempfindlichkeit der proteolytischen Bakterienenzyme nicht als absolut, sondern nur als für den speziellen 25 Fall (Verwendung von verflüssigter Gelatinekultur der betreffenden Spezies) gültig zu bezeichnen. Fermi fand, daß durch einstündiges Erhitzen vernichtet werden: Die proteolytischen Enzyme von *M. prodigiosus*, *M. ascoformis*, *Bac. ramosus*, *Staphyl. pyogen. aureus*, Buttersäurebazillus und von gewissen Schimmelpilzen unter 55° C, — von *Bac. pyocyaneus*, 30 Heubazillus, *Sarcina aurantiaca*, *Bac. fluorescens* und von *Bac. megaterium* bei 55—60° C, — von *Bac. Milleri* bei 60—65° C, — von Bazillus des Kieler Hafens, Käsespirillen, *Vibrio Finkler-Prior*, *V. cholerae*, *Bac. anthracis* und von *Trychophyton tonsurans* bei 65—70° C. Wie alle Enzyme, so scheinen auch die proteolytischen Bakterienenzyme in trockenem Zustande 35 erheblich resistenter gegen hohe Temperaturen zu sein. Wenigstens konnte Fermi das durch Alkohol gefällte Enzym des *Vibrio Finkler-Prior* eine Stunde lang auf 140° erhitzen, ohne daß seine Wirksamkeit geschwächt wurde. Tiefe Temperaturen schädigen die Bakterienenzyme im allgemeinen nicht; selbst Abkühlen auf — 200° C hat in einem 40 meiner Versuche das Leimlösungsvermögen des Enzymes des *Vibrio cholerae* (bei nachheriger Prüfung bei 22°) nicht wesentlich beeinträchtigt. Für die Wirkung der proteolytischen Bakterienenzyme ist selbstverständlich eine höhere Temperatur erforderlich. Bei + 4° scheint nach Fermi's Versuchen keine Wirkung auf Fibrin mehr nachweisbar 45 zu sein. Die optimale Temperatur für die Wirkung dürfte im allgemeinen bei 30—40° liegen, indessen sind genauere Untersuchungen darüber nicht angestellt.

Durch 200-stündiges Stehen im Sonnenlicht wurden nach Fermi und Pernossi die Enzyme verschiedener Bakterienarten geschädigt, aber 50 nicht zerstört.

Die Wirkung der meisten proteolytischen Bakterienenzyme wird nach FERMI durch Säurezusatz stark gemindert. Dabei verhalten sich die Enzyme der verschiedenen Bakterienarten gegenüber den verschiedenen Säuren different (FERMI [1]). Am stärksten scheinen Schwefelsäure und Salzsäure die Wirkung aller Fermente zu schädigen, am wenigsten die 5 Säuren der Fettreihe. Dies gilt aber nur von der Gelatineverflüssigung. Auf Fibrin wirkt kein bisher untersuchtes Bakterienenzym bei Gegenwart von Säuren.

Das günstigste Medium für die Wirkung der proteolytischen Bakterienenzyme ist unzweifelhaft durch eine leicht alkalische Reaktion gegeben. 10 Diese Tatsache ist leicht verständlich, wenn man sich vergegenwärtigt, daß ja die meisten Bakterienarten nur in alkalischen Medien üppige Vermehrung zeigen. Wenn die proteolytischen Enzyme also der Aufbereitung der Nahrung dienen sollen, so ist es begreiflich, daß die Wirkung nur in alkalischen Medien voll in Erscheinung tritt. 15

Von der Gegenwart oder Abwesenheit von Sauerstoff ist die Wirkung der fertigen Bakterienenzyme nicht abhängig, wohl aber die Bildung (s. u.). Sie verflüssigen Gelatine ohne sichtbaren Unterschied in einer Atmosphäre von Stickstoff, Kohlenoxyd, Kohlensäure, Wasserstoff, wie in Luft. Die Gegenwart von Schwefelwasserstoff beeinflußt nur die 20 Enzyme von *M. prodigiosus*, *Bac. pyocyaneus*, sowie des Choleravibrio ungünstig (FERMI).

Die **Enzymbildung** wechselt auf den verschiedenen Nährböden in ihrer Stärke. Am üppigsten ist sie wohl stets in Gelatinekulturen. Indessen ist auch auf Agarkulturen eine erhebliche Produktion wahr- 25 nehmbar, ebenso in Bouillonkulturen. Auf stark kohlenhydrathaltigen Nährböden (Kartoffeln) scheint die Bildung der proteolytischen Enzyme bei einzelnen Bakterienarten geringer zu sein. Auf eiweißfreien Nährböden mit Glycerinzusatz bilden nur der *M. prodigiosus* und *Bac. pyocyaneus* noch Enzym, während die übrigen von FERMI untersuchten Bakterien- 30 arten versagten. Zusatz von Glycosiden und Alkaloiden hebt in den meisten Fällen die Enzymbildung auf; am wenigsten scheint das Morphin schädlich zu wirken, am meisten das Chinin. Dabei erwies sich das Enzym des *Bac. pyocyaneus* auch hier wieder am widerstandsfähigsten (FERMI [1]). Durch Züchtung in karbolhaltiger Bouillon (WOOD [1]), durch 35 Zuckerzusatz zum Nährboden (KUHN [1], AUERBACH [1]) kann man die Enzymbildung erheblich einschränken. Es handelt sich nach AUERBACH bei der Wirkung des Zuckerzusatzes nicht um Säurebildung, welche die Enzym w i r k u n g aufheben könnte, sondern die Enzym b i l d u n g wird gehindert. Daraus erklärt sich auch vielleicht zum Teil die fäulnis- 40 hemmende Wirkung des Zuckers (STRAUSS [1], GORINI [2], SCHMITZ [1]). Ebenso wird die Enzymbildung nach LIBORIUS (1) und SANFELICE (2) durch anaerobe Züchtung gehemmt; die betreffenden Stämme verloren dadurch ihr Verflüssigungsvermögen ganz oder teilweise, und einzelne gewannen es auch bei nachfolgender aerober Züchtung nicht wieder. 45

In betreff der **Wirkung der proteolytischen Enzyme** ist zu beachten, daß zwar zum Nachweise dieser Enzymklasse sich die Gelatine als bestes Reagenz erwiesen hat. Jedoch ist nicht zu bezweifeln, daß auch die übrigen Eiweiskörper durch einzelne, wenn auch vielleicht nicht alle Bakterienenzyme zersetzt werden können. Relativ schwer zersetzt 50 werden alle natürlichen „genuinen“ Eiweißlösungen, wie ungekochtes Hühnereiweiß, Blut, Blutserum, vornehmlich wohl darum, weil diese Substrate sämtlich noch eine gewisse Antifermentwirkung besitzen (HAHN [2]).

Schwer angreifbar sind auch die Nucleine oder nucleinartige Körper enthaltende Flüssigkeiten und feste Stoffe. Selbstverständlich ist auch immer ein gewisser Wassergehalt notwendig, damit die Bakterien sich vermehren, also auch die Enzyme sich bilden und in Wirksamkeit treten können. Stark getrocknete Eiweißkörper, wie z. B. getrocknetes Fibrin oder mit Alkohol lange behandeltes Serumalbumin, setzen, wenn sie einfach in Wasser suspendiert werden, der Enzymwirkung einen ziemlich erheblichen Widerstand entgegen. Keratinsubstanzen (Haare etc.) sind der Einwirkung der proteolytischen Enzyme nur sehr schwer zugänglich. Ebenso sind die elastischen Fasern (Sehnen etc.) nicht leicht zersetzlich. Die Konzentration der Eiweißlösungen spielt insofern eine Rolle, als sie die Bakterienentwicklung und damit die Enzymbildung hemmen kann. Verdünntes Blutserum wird z. B. viel rascher zersetzt als unverdünntes. Die Eiweißkörper entfalten hier in starker Konzentration eine ähnliche hemmende Wirkung, wie sie von starken Zucker- und Salzlösungen ausgehen kann.

Ueber die **Produkte der proteolytischen Enzymwirkung** herrscht noch insofern einige Ungewißheit, als noch nicht völlig entschieden zu betrachten ist, wieviel von den weitgehenden Spaltungsprozessen, die wir in bakterienhaltigen Flüssigkeiten konstatieren können, auf Rechnung der proteolytischen Enzyme zu setzen ist, bzw. wieviel an die Wirkung anderweitiger Enzyme gebunden ist oder direkt mit dem Lebens- und Wachstumsprozeß der organisierten Zelle verknüpft ist. Die meisten Untersucher, die sich bisher mit den Spaltungsprodukten beschäftigt haben, haben sich im allgemeinen mit dem Nachweis der löslichen Albumosen und Peptone unter den Spaltungsprodukten begnügt (Bitter, Fermi). Die Schwierigkeit, große Mengen kräftig wirkender Bakterienenzyme zu erhalten, mag davon abgehalten haben, der Frage nachzugehen, ob auch die Produkte der tiefgehenden Eiweißspaltung, wie die Hexonbasen, Aminosäuren, Ammoniumbasen, Indol, Skatol, Mercaptan, ihre Entstehung der Enzymwirkung verdanken oder ob ihr Auftreten an die Gegenwart lebender Zellen geknüpft ist. Eigentlich kann man bisher nur in den Arbeiten von Emmerling und Reiser (1) sowie allenfalls auch von Tissier und Martelly (1) den Nachweis erbracht sehen, daß das proteolytische Enzym des *Bac. fluorescens liquefaciens* imstande ist, Arginin, Tyrosin, Leucin und Asparaginsäure neben Pepton zu bilden. Indessen ist man hier gerade wohl zu weitgehenden Analogieschlüssen berechtigt und darf annehmen, daß die Aufspaltung der Eiweißkörper in Mono- und Diaminosäuren etc. bei einer großen Zahl von Bakterienarten lediglich mit Hilfe der proteolytischen Enzyme erfolgt. Dabei muß es vorläufig allerdings unentschieden bleiben, ob die Rolle nur den proteolytischen Endoenzymen oder den Ectoenzymen zukommt. Die Versuche von Emmerling und Reiser gestatten hier keine endgültige Entscheidung; sie wurden mit gewaschenen, frischen Bakterien angestellt, die nach und nach dem in Toluolwasser befindlichen Fibrin zugesetzt wurden. Es ist also hier die Möglichkeit gegeben, daß sowohl Ectoenzym, wie auch durch Autolyse aufgelöste Bakterienleiber und damit Endoenzym mitgewirkt haben. Es ist aber, im ganzen genommen, nicht unwahrscheinlich, daß die Tätigkeit der proteolytischen Ectoenzyme nur auf die Ueberführung der Eiweißstoffe in eine leicht diffundierbare oder assimilierbare Form (Albumosen und Peptone) beschränkt ist, während die Endoenzyme den tiefergehenden Spaltungsprozeß, der mit der Erzeugung von Energie einhergeht, zu verrichten hätten. Dafür sprechen

wenigstens die Beobachtungen über die Hefen-Endotryptase, welche Hexonbasen, Aminosäuren etc. bildet, während derartige Produkte bisher nie bei der Wirkung der reinen Ectoenzyme beobachtet wurden. Wenn man JENSEN's (1) vortrefflicher Klassifizierung folgt, so würde danach durch die Ectoenzyme eine „unechte" Gärung ausgelöst, während die Endoenzyme eine echte Gärung hervorrufen. Die proteolytischen Ectoenzyme wären also der Invertase, die Endoenzyme der Zymase (Alkoholase) gleichzustellen. 5

Die **Natur der proteolytischen Enzyme** der Bakterien erhellt aus der Tatsache, daß sie eine kräftige Wirkung nur in alkalischen Medien zu entfalten vermögen, und aus den Spaltungsprodukten, welche sie liefern; sie sind dadurch als zur Gruppe der Trypsine gehörig (BITTER, FERMI, EMMERLING und REISER) gekennzeichnet, der ja auch die meisten proteolytischen Enzyme des Pflanzenreichs anzugliedern sind. Man sollte sie eigentlich daher auch als Tryptasen und mit dem Namen der betreffenden Bakterienart bezeichnen. Für die Verschiedenheit der einzelnen proteolytischen Bakterienenzyme spricht bisher eigentlich nur das differente Verhalten gegen hohe Temperaturen, Säuren etc. Allerdings ist hier zu bedenken, daß diese Unterschiede eigentlich nur beweisend sind, wenn man rein dargestellte Körper in dem gleichen Lösungsmittel und in gleicher Konzentration vergleicht; fremde Beimengungen, Konzentrationsunterschiede können Differenzen vortäuschen. Wünschenswert wäre es jedenfalls, daß man durch ausgedehnte Untersuchungen über die Qualität und Quantität der Spaltungsprodukte, welche die Bakterienenzyme liefern, in die Lage versetzt würde, sie strenger voneinander zu trennen. Indessen ist es nach dem, was man über die chemische Tätigkeit der lebenden Zellen und die Bedeutung weiß, welche die proteolytischen Enzyme für die Ernährung der einzelnen Bakterienarten besitzen, durchaus nicht unwahrscheinlich, daß es verschiedene Arten von Bakterienendoenzymen gibt, die sich durch Qualität und Quantität der gebildeten Spaltungsprodukte unterscheiden, während für die Ectoenzyme die Unterschiede jedenfalls nicht so prägnante sein dürften. 10 15 20 25 30

Die praktische Bedeutung der proteolytischen Enzyme für die Gärungsgewerbe wird an den einzelnen Stellen des Handbuches eingehend gewürdigt werden. Ueberall, wo eiweißhaltige Flüssigkeiten oder feste Substanzen mit Hilfe von Bakterien, sei es durch Reinkulturen, sei es durch Fäulnisgemische zersetzt werden, ist auch die Mithilfe der proteolytischen Enzyme gegeben. Insbesondere scheinen sie eine wichtige Rolle beim Reifungsprozeß des Käse zu spielen, worüber das 9. und 10. Kapitel des II. Bandes Näheres besagt. Ein weiteres Beispiel für die Bedeutung der proteolytischen Bakterienenzyme im Gewerbe bietet die Lederindustrie. Hier sind es die in der Kot- und Kleienbeize nach TURNBALL (1) und WOOD (2) vorhandenen Bakterien, welche mit Hilfe ihrer Enzyme die eiweißartigen Bestandteile der Haut lösen. Das 2. Kapitel des V. Bandes bringt darüber nähere Angaben. In Fällen, in denen die Lösung eiweißartiger Substanzen bereits begonnen hat, aber noch nicht weit genug vorgeschritten ist, jedoch eine zu weit gehende Bakterienentwicklung zu befürchten ist, wird man häufig solche Prozesse in richtige Bahnen lenken können, wenn man nachträglich noch billige Antiseptica (Creolin), soweit es sich nicht um Nahrungs- und Genußmittel handelt, zufügt. Die Bakterienentwicklung wird alsdann sistiert, aber die Wirkung des bereits gebildeten Ferments dauert fort. 35 40 45 50

Auf die schädliche Tätigkeit der proteolytischen Bakterienenzyme

in der Industrie braucht hier nur ganz kurz hingewiesen zu werden. Die Zersetzung von Nahrungs- und Genußmitteln, insbesondere auch Futtermitteln und Konserven, durch Bakterien, die durch eiweißlösende Enzyme wirken, ist bekannt genug und an anderen Stellen dieses Hand-
5 buches, insbesondere in dessen II. Band, ausführlich erörtert.

Literatur

zum Kapitel Die Proteinfäulnis.

* **Abel,** J., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1895, Bd. 20, S. 253. * **Abel,** R., und **Draer,** A., (1) Z. f. Hyg., 1895, Bd. 19, S. 61. * **Arustamoff,** M., (1) Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. 10, S. 113; Hyg. Rundsch., 1892, Bd. 2, S. 642. * **Aschoff,** Ludwig, (1) Z. f. allgem. Physiologie, 1902, Bd. 1, S. 69; auch als selbständige Schrift: Ehrlich's Seitenkettentheorie und ihre Anwendung auf die künstlichen Immunisierungsprozesse, Jena 1902, erschienen. * **Auché,** (1) Hyg. Rundsch., 1897, Bd. 7, S. 1230 nach dem Referat von Smolenski. * **Auerbach,** W., (1) Arch. f. Hyg., 1897, Bd. 31, S. 311. * **Babes,** V., und **Riegler,** P., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd. 33, Orig., S. 438. * **Baginsky,** Adolf, (1) Z. f. physiolog. Chem., 1889, Bd. 13, S. 352. * **Bail,** Oskar, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 567; Bd. 9, S. 501. * **Ballner,** F., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1904, Bd. 27, S. 380. * **Basenau,** Fr., (1) Arch. f. Hyg., 1894, Bd. 20, S. 242; 1898, Bd. 32, S. 219. * **Baumann,** E., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1879, Bd. 12, S. 1450; Z. f. physiolog. Chem., 1880, Bd. 4, S. 312. — (2) Z. f. physiolog. Chem., 1877/78, Bd. 1, S. 60. — (3) Ebenda, 1879, Bd. 3, S. 250. — (4) Ebenda, 1882/83, Bd. 7, S. 282. — (5) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1877, Bd. 10, S. 685. — (6) Z. f. physiolog. Chem., 1895, Bd. 20, S. 583. * **Baumann,** E., und **Brieger,** L., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1879, Bd. 3, S. 149; 1880, Bd. 4, S. 204. — (2) Ebenda, 1879, Bd. 3, S. 254. * **Baumann,** E., und **Herter,** E., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1877/78, Bd. 1, S. 244. * **Baumann,** E., und **Udransky,** L. von, (1) Z. f. physiolog. Chem., 1889, Bd. 13, S. 567. * **Beck,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1902, Bd. 32, Orig., S. 649. * **Beijerinck,** M. W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 363. — (2) Ebenda, 1900, Bd. 6, S. 193. — (3) Archives Néerlandaises, 1889, Bd. 2, S. 402. * **Bergmann,** E., und **Schmiedeberg,** O., (1) Centralbl. f. mediz. Wissensch., 1868, Bd. 6, S. 497. * **Bertarelli,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd. 34, Orig., S. 193. * **Bienstock,** (1) Arch. f. Hyg., 1901, Bd. 39, S. 390. — (2) Ebenda, 1899, Bd. 36, S. 335. — (3) Z. f. klin. Mediz., 1884, Bd. 8, S. 1. * **Biffen,** R. H., (1) Annals of botany, 1898, Bd. 12, S. 165; Koch's Jahrb. 1898, Bd. 9, S. 259. * **Bitter,** H., (1) Arch. f. Hyg., 1886, Bd. 5, S. 241. * **Blachstein,** A., (1) Hyg. Rundsch., 1893, Bd. 3, S. 165. * **Blumenthal,** F., (1) Z. f. klin. Mediz., 1895, Bd. 28, S. 222. — (2) Virchows Archiv, 1896, Bd. 146, S. 65. — (3) Ebenda, 1894, Bd. 137, S. 539. * **Bocklisch,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1885, Bd. 18, S. 86 u. 1922; 1887, Bd. 20, S. 1441. * **Du Bois Saint-Sevrin,** (1) Ann. Pasteur, 1894, Bd. 8, S. 152. * **Bonhoff,** (1) Arch. f. Hyg., 1895, Bd. 22, S. 351. * **Bopp,** F., (1) Liebigs Ann., 1847, Bd. 69, S. 31. **Bornträger,** H., (1) Oesterr. Chem.-Ztg., 1900, Bd. 3, S. 295. * **Bovet,** (1) Ann. de microgr. 1890, Bd. 2, S. 322. * **Brieger,** L., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1877, Bd. 10, S. 1027; Z. f. physiolog. Chem., 1878, Bd. 2, S. 241; J. f. prakt. Chem., 1877, Bd. 17, S 124. — (2) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1879, Bd. 12, S. 1986. — (3) Z. f. physiolog. Chem., 1880, Bd. 4, S. 414. — (4) Ebenda, 1879, Bd. 3, S. 134. — (5) Ebenda, 1881, Bd. 5, S. 366. — (6) Ueber Ptomaine, I—III, Berlin 1885/86; Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1883, Bd. 16, S. 1186, 1405; 1884, Bd. 17, S. 415, 515, 1137, 2741; 1885, Bd. 18, S. 1922; 1887, Bd. 20, S. 67, 656, 797. — (7) Deutsch. mediz. Wochenschr., 1887, S. 303; Virchows Archiv, 1888, Bd. 112, S. 549; Berlin. klin. Wochenschr., 1887, Bd. 24, S. 817; vgl. auch Ruppel: Die Proteine, Marburg 1900, S. 115. — (8) Z. f. Hyg., 1895, Bd. 19, S. 101. — (9) Z. f. physiolog. Chem., 1882/83, Bd. 7, S. 274. — (10) Virchows Archiv, 1888, Bd. 112, S. 549. * **Brieger,** L., und **Boer,** O., (1) Z. f. Hyg., 1896, Bd. 21, S. 259. * **Brieger,** L., und **Cohn,** (1) Z. f. Hyg., 1893, Bd. 15, S. 1. * **Brieger,** L., und **Fränkel,** C., (1) Berlin. klin. Wochenschr., 1890, Bd. 27, S. 241. * **Brieger,** L., und **Kempner,** W., (1) Deutsch. mediz. Wochenschr., 1897, Bd. 23, S. 521. * **Brodmeier,** A., (1) Ueber die Beziehung des Proteus vulgaris Hsr. zur ammoniakalischen Harnstoffzersetzung. Inaug.-Diss., Erlangen 1896; Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1895, Bd. 18, S. 380. * **Brosch,** A., (1) Hyg. Rundsch., 1897, Bd. 7, S. 896. * **Bujwid,** Odo, (1) Z. f. Hyg., 1887, Bd. 2, S. 52. * **Burdon-Sanderson,** (1) Quarterly Journal of Microscop. Science, 1871, Bd. 11, S. 323. * **Carbone,** Tito, (1) Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. 8, S. 768. * **Chantemesse** und **Widal,** (1) Sem. méd., 1891, Bd. 11, S. 415; Hyg.

Rundsch., 1892, Bd. 2, S. 382. ***Cohn,** Ferdinand, (1) Nova acta Academiae Carol.-Leop. nat. cur., 1853, Bd. 24, Abt. 1, S. 123. — (2) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1872, Bd. 1, Heft 1, S. 124. ***Conradi** (1) Biochem. Centralbl., 1903, Bd. 1, S. 234. ***Czaplewski,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1895, Bd. 1, S. 186, Anm. 1. ***Dieudonné,** A., (1) Hyg. Rundsch., 1902, Bd. 12, S. 897. ***Dujardin,** Felix, (1) Histoire naturelle des Zoophytes, Paris 1841. ***Dupré** und **Bence-Jones,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1874, Bd. 7, S. 1491. ***Ehrenberg,** Gottfr. Chr., (1) Abhandlg. d. Königl. Akadem. z. Berlin, 1829, S. 16; 1831, S. 64, 74; 1832, S. 56. — (2) Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen, Leipzig 1838. ***Ehrenberg,** A., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1887, Bd. 11, S. 237. ***Ehrlich,** Felix, (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1904, Bd. 37, S. 1809. ***Ehrlich,** P., (1) Deutsch. mediz. Wochenschr., 1898, Bd. 24, S. 597. ***Eidam,** Eduard, (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1875, Bd. 1, Heft 3, S. 208; 1883, Bd 3, S. 128. ***Eijkman,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1901, Bd. 29, S. 841. ***Ellinger,** A., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1904, Bd. 37, S. 1801. — (2) Ebenda, 1900, Bd. 32, S. 3542; Z. f. physiolog. Chem., 1900, Bd. 29, S. 342. ***Ellinger,** A., und **Gentzen,** M., (1) Hofmeisters Beiträge, 1903, Bd. 4, S. 171. ***Emerson,** R. L., (1) Hofmeisters Beitr., 1902, Bd. 1, S. 501. ***Emmerich,** Rudolf, (1) Arch. f. Hyg., 1885, Bd. 3, S. 291. ***Emmerich,** R., und **Weibel,** E., (1) Arch. f. Hyg., 1894, Bd. 21, S. 1. ***Emmerling,** O., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1897, Bd. 30, S. 1863. — (2) Ebenda, 1896, Bd. 29, S. 2721. ***Emmerling,** O., und **Reiser,** O., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1902, Bd. 35, S. 700. ***van Ermengem,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1897, Bd. 21, S. 19; Hyg. Rundsch., 1897, Bd. 7, S. 414. — (2) Z. f. Hyg., 1897, Bd. 26, S. 1. ***Escherich,** Th., (1) Die Darmbakterien des Säuglings und ihre Beziehungen zur Physiologie der Verdauung, Stuttgart 1886. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1887, Bd. 1, S. 705. ***Faust,** Edwin S., (1) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol., 1904, Bd. 51, Heft 2/3; Biochem. Centralbl., 1904, Bd. 2, S. 696. ***Fermi,** Cl., (1) Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. 7, S. 469; 1891, Bd. 10, S. 401; 1892, Bd. 12, S. 712; Arch. f. Hyg., 1890, Bd. 10, S. 1; 1891, Bd. 12, S. 240; 1892, Bd. 14, S. 1. ***Fermi,** Cl., und **Montesano,** G., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1895, Bd. 1, S. 482. ***Fermi,** Cl., und **Pernossi,** L., (1) Arch. f. Hyg., 1892, Bd. 14, S. 41; Z. f. Hyg., 1894, Bd. 16, S. 385. ***Fischel,** F., und **Enoch,** C., (1) Fortschr. d. Mediz., Bd. 10, S. 277; Hyg. Rundsch., 1892, Bd. 2, S. 797. ***Fischer,** B., (1) Z. f. Hyg., 1902, Bd. 39, S. 447. ***Fischer,** (1) Pflügers Archiv, 1904, Bd. 97, S. 601. ***Fraenkel,** C., (1) Hyg. Rundsch., 1894, Bd. 4, S. 769. ***Fremlin,** (1) Arch. f. Hyg., 1893, Bd. 19, S. 295. ***Fresenius** und **Neubauer,** (1) Z. f. analyt. Chem., 1862, Bd. 1, S. 343. ***Fromme,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 12, S. 274. ***Gaertner,** A., (1) Korrespondenzblatt d. allgem. ärztl. Vereines von Thüringen, 1888, S. 573. ***Gaffky** und **Paak,** (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1890, Bd. 6, S. 159. ***Galeotti,** G., und **Zardo,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1902, Bd. 31, Orig., S. 593. ***Garcia,** S., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1893, Bd. 17, S. 543. ***Gautier,** A., (1) Traité de chimie appliquée à la physiologie, 1873, Bd. 1, S. 253; Comptes rend. de l'Ac., 1882, Bd. 94, S. 1119. — (2) Bull. de la Soc. Chim., 1885, 2. sér. Bd. 43, S. 158. ***Gautier,** A., und **Etard,** E., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1882, Bd. 94, S. 1357 u. 1598 ***Gayon,** U., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1877, Bd. 85, S. 1074. ***Geret** und **Hahn,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1898, Bd. 31, S. 202 u. 2335; s. a. Buchner-Hahn, Zymasegärung, München 1903. ***Gessard,** C., (1) De la pyocyanie et de son microbe, Thèse de Paris 1882. ***Glasmacher,** (1) Berl. klin. Wochenschr., 1886, S. 666; Centralbl. f. Bakt., 1887, Bd. 1, S. 233. ***Glücksmann,** L., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1899, Bd. 25, S. 696. ***Gorini,** C., (1) Hyg. Rundsch., 1893, Bd. 3, S. 381. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1893, Bd. 13, S. 790. ***Gotschlich,** E., und **Weigang,** (1) Z. f. Hyg., 1895, Bd. 20, S. 376. ***Grigoriew,** W., (1) Arch. f. Hyg., 1894, Bd. 21, S. 142. ***Guareschi,** J., und **Mosso,** A., (1) J. f. prakt. Chem., 1883, Bd. 27, S. 425; Bd. 28, S. 504. ***Günther,** C., (1) Arch. f. Hyg., 1897, Bd. 28, S. 146. ***Hahn,** M., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1898, Bd. 31, S. 200. — (2) Berl. klin. Wochenschr., 1897, Bd. 34, S. 499. ***Halasz,** (1) Z. f. anorg. Chem., 1901, Bd. 26, S. 438. ***Harmsen,** E., (1) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak., 1903, Bd. 50, S. 361; Biochem. Centralbl., 1904, Bd. 2, S. 290. ***Hauser,** Gustav, (1) Ueber Fäulnisbakterien und deren Beziehungen zur Septikämie, Leipzig 1885. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 12, S. 630. ***Hausmann,** W., (1) Hofmeisters Beitr., 1902, Bd. 2, S. 134. ***Hayashi,** (1) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol., 1902, Bd. 47, S. 9. ***Hemmer,** M., (1) Experim. Studien üb. die Wirkung faulend. Stoffe auf die tier. Organismen. Gekrönte Preisschrift, München 1866. ***Hermann,** (1) Z. f. Fleisch- u. Milchhyg., 1894, Bd. 4, S. 211; 1901, Bd. 11, S. 150. ***Hirschler,** Aug., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1886, Bd. 10, S. 306. ***Hofmeister,** F., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1878/79, Bd. 2, S. 299. ***Holschewnikoff,** (1) Fortschr. d. Mediz., 1889, Bd. 7, S. 201; Centralbl. f. Bakt., 1889, Bd. 6, S. 14. ***Hopkins,** F. G., und **Cole,** S. W., (1) Journ. of Physiology, 1901, Bd. 27, S. 418; 1902, Bd. 29, S. 451; Biochem. Centralbl., 1903, Bd. 1, S. 658. ***Hüfner,** G., (1) J. f. prakt. Chem., 1875, Bd. 11, S. 43. ***Hueppe,** F., (1) Centralbl. f. Bakt., 1888, Bd. 4,

S. 80. ***Jacoby,** M., (1) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol., 1901, Bd. 46, S. 28. — (2) Hofmeisters Beitr., 1902, Bd. 1, S. 51; Bd. 2, S. 535. ***Jacquemart,** F., (1) Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. 9, S. 107. ***Jaeger,** H., (1) Z. f. Hyg., 1892, Bd. 12, S. 525. ***Ide,** M., (1) La Cellule, 1891, Bd. 6, S. 325; Kochs Jahresb., Bd. 2, S. 244. ***Jeanneret,** J., (1) J. f. prakt. Chem., 1877, Bd. 15, S. 353. ***Jensen,** O., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 734. ***Jerosch,** (1) Baumgartens Jahresb., 1887, S. 104. Anm. ***Jordan,** Edwin O., (1) Hyg. Rundsch., 1900, Bd. 10, S. 929. ***Kaensche,** C., (1) Z. f. Hyg., 1896, Bd. 22, S. 53. ***Kalischer,** O., (1) Arch. f. Hyg., 1900, Bd. 37, S. 30. ***Karliński,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 1889, Bd. 6, S. 289. ***Kempner,** W., (1) Z. f. Hyg., 1897, Bd. 26, S. 481. ***Kempner,** W., und **Pollack,** (1) Deutsch. med. Wochenschr., 1897, Bd. 23, S. 505. ***Kerry,** R., (1) Sitzungsber. d. math.-naturw. Klasse d. Kais. Akad. d. Wissensch. z. Wien, 1889, Bd. 98, Abt. III, S. 445. ***Kiessling,** Fr., (1) Hyg. Rundsch., 1893, Bd. 3, S. 724. ***Kitasato,** Sh., (1) Z. f. Hyg., 1889, Bd. 7, S. 519. — (2) Ebenda, 1891, Bd. 10, S. 267. — (3) Ebenda, 1889, Bd. 6, S. 105; 1890, Bd. 8, S. 55. ***Klein,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 23, S. 542. — (2) Ebenda, 1899, Bd. 25, S. 278. ***Kohlbrugge,** J. H. F., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1901, Bd. 29, S. 571; Bd. 30, S. 10. ***Kozai,** Y., (1) Z. f. Hyg., 1899, Bd. 31, S. 337. ***Kreisel,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1901, Bd. 29, S. 6. ***Kreps** (1) Methode des Phosphornachweises in gerichtl.-chemisch. Fällen und deren kritische Begutachtung. Inaug.-Diss., Petersburg, 1901. ***Kühne,** (1) Z. f. Biologie, 1892, Bd. 29, S. 1. ***Kuhn,** F., (1) Arch. f. Hyg., 1891, Bd. 13, S. 40; vgl. auch Lehmann-Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie, 3. Aufl., S. 324. ***Kurth,** (1) Bot. Ztg., 1883, Bd. 41, S. 336. ***Ladenburg,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1883, Bd. 16, S. 1151. ***Landmann,** G., (1) Hyg. Rundsch., 1904, Bd. 14, S. 449. ***Le Dantec** (1) Ann. Pasteur, 1892, Bd. 6, S. 851. ***Lehmann,** K. B., und **Neumann,** A., (1) Atlas und Grundriß der Bakteriologie, 3. Aufl., S. 302. ***Lembke,** W., (1) Arch. f. Hyg., 1896, Bd. 26, S. 293. ***Levy,** E., (1) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak., 1894, Bd. 34, S. 342. ***Levy,** E., und **Jacobsthal,** E., (1) Arch. f. Hyg., 1902, Bd. 44, S. 113. ***Levy,** E., und **Pfersdorff,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd. 33, Ref., S. 15. ***Lewandowski,** A., (1) Deutsch. med. Wochenschr., 1890, S. 1186; Kochs Jahresb., 1890, Bd. 1, S. 36. ***Liborius,** Paul, (1) Z. f. Hyg., 1886, Bd. 1, S. 115. ***Loeffler,** F., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1892, Bd. 11, S. 129. ***Lüderitz,** Carl, (1) Z. f. Hyg., 1889, Bd. 5, S. 141. ***Maass,** H., (1) Fortschr. d. Mediz., 1883, Bd. 1, S. 373; 1884, Bd. 2, S. 729; Chem. Centralbl., 1883, S. 712; 1884, S. 975. ***Maassen,** Albert, (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1899, Bd. 15, S. 500. ***Macfadyen,** A., **Nencki,** M., und **Sieber,** N., (1) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak., 1891, Bd. 28, S. 311. ***Macfadyen,** A., und **Rowland,** S., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd. 34, Orig., S. 618 u. 765; 1904, Bd. 35, Orig., S. 415. ***Madsen,** Th., (1) Z. f. Hyg., 1899, Bd. 32, S. 215. ***Mann,** (1) Lehmann-Neumann's Atlas und Grundriß der Bakteriologie, 3. Aufl., S. 64. ***Marinesco,** (1) Z. f. Hyg., 1897, Bd. 26, S. 48. ***Marpmann,** G., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 21. ***Marquardt,** (1) Z. f. analyt. Chem., 1875, Bd. 14, S. 231. ***Marx,** H., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1901, Bd. 30, S. 118. — (2) Z. f. Hyg., 1902, Bd. 40, S. 231. ***Meyerhof,** M., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 24, S. 8. ***Milchner,** (1) Berlin. klin. Wochenschr., 1898, Bd. 35, S. 369. ***Mörner,** (1) Z. f. physiolog. Chem., 1896/97, Bd. 22, S. 514. ***Morris,** M., (1) Arch. f. Hyg., 1897, Bd. 30, S. 304. ***Müller,** Otto Friedrich, (1) Vermium terrestrium et fluviatilium historia, Kopenhagen 1773. ***Müller,** (1) Studien über Krankheits- und Todesursachen in faulenden Stoffen. Inaug.-Diss., München, 1867. ***Navarre,** (1) Arch. f. Hyg., 1898, Bd. 32, S. 233, nach der dortigen Angabe von Basenau. ***Nencki,** Léon, (1) Sitzungsber. d. math.-naturw. Kl. d. Kais. Akad. d. Wissensch. z. Wien, 1889, Bd. 98, Abt. III, S. 437. ***Nencki,** M., (1) J. f. prakt. Chem., 1878, Bd. 17, S. 97 u. 105. — (2) Sitzungsber. d. math.-naturw. Kl. d. Kais. Akad. d. Wissensch. z. Wien, 1889, Bd. 98, Abt. IIb, S. 397. — (3) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1875, Bd. 8, S. 336 u. 722. — (4) Z. f. physiolog. Chem., 1880, Bd. 4, S. 371. — (5) Centralbl. f. mediz. Wissensch., 1878, Bd. 16, S. 849. — (6) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1874, Bd. 7, S. 1593. — (7) Die Zersetzung des Eiweißes und der Gelatine bei der Fäulnis mit Pankreas. Bern 1876. — (8) J. f. prakt. Chem., 1882, Bd. 26, S. 47. ***Nencki,** M., und **Brieger,** L., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1877, Bd. 10, S. 1027 u. 1032. ***Nencki,** M., und **Sieber,** N., (1) Sitzungsber. d. math. naturw. Kl. d. Kais. Akad. d. Wissensch. z. Wien, 1889, Bd. 98, Abt. IIb, S. 417. ***Nencki,** M., **Sieber,** N., und **Schumoff-Simonowski,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 23, S. 840. ***Niederkorn,** Erminio, (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1900, Bd. 27, S. 749. ***Odermatt,** W., (1) J. f. prakt. Chem., 1878, Bd. 18, S. 249; vgl. auch Nencki, Centralbl. f. mediz. Wissensch., 1878, Bd. 16, S. 611. ***Oechsner de Coninck,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1888, Bd. 106, S. 858 u. 1604; 1889, Bd. 108, S. 58, 809. ***Oppenheimer,** C., (1) Toxine und Antitoxine, 1904. — (2) Die Fermente, 1903. ***Pammel,** L. H. u. E., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 633. ***Panum,** P. L.,

(1) Schmidts Jahresb. f. d. gesamte Medizin, 1859, S. 213; Virchows Archiv, 1874, Bd. 60, S. 301. ***Pasteur,** Louis, (1) Comptes rend. de l'Ac. 1863, Bd. 56, S. 1189. ***Péré,** A., (1) Ann. Pasteur, 1892, Bd. 6, S. 512. — (2) Ebenda, 1893, Bd. 7, S. 737; 1898, Bd. 12, S. 63. ***Perty,** Maximilian, (1) Zur Kenntnis kleinster Lebensformen, Bern 1852. ***Petri,** R. J., (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1890, Bd 6, S. 374. ***Petri,** R. J., und **Maaßen,** A., (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1892, Bd. 8, S. 318; 1893, Bd. 8, S. 490. ***Petruschky,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1896, Bd. 19, S. 187. ***Pfaundler,** M., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 23, S. 9. — (2) Ebenda, 1902, Bd. 31, Orig., S. 113. ***Pfuhl,** E., (1) Z. f. Hyg., 1900, Bd. 35, S. 265. ***Pick,** E., und **Joachim,** J., (1) Biochem. Centralbl., 1904, Bd. 2, S. 221. ***Piorkowski,** (1) Arch. f. Hyg., 1895, Bd. 25, S. 145. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1902, Bd. 31, Ref., S. 18. ***Poels** und **Dhont,** (1) Arch. f. Hyg., 1898, Bd. 32, S. 245. ***Poleck,** (1) Arch. d. Pharm., 1887, Bd. 225, S. 205. ***Pringle,** John, (1) Observations on the diseases of the army, London 1752. Deutsch übersetzt von Brande, Altenburg 1772. ***Radzievsky,** Al., (1) Z. f. Hyg., 1900, Bd. 34, S. 368. ***Rahner,** R., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1901, Bd. 30, S. 239. ***Rettger,** F., (1) Americ. Journ. of Physiology, Bd. 8, S. 284; Biochem. Centralbl., 1903, Bd. 1, S. 230. ***Rietsch,** (1) Extrait du Journ. de Pharm. et de Chim., 1887, 1. Juillet. ***Ritter,** Georg, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 206. ***Rodella,** (1) Z. f. Hyg., 1902, Bd. 39, S. 201; Bd. 41, S. 466. ***Römer,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1900, Bd. 27, S. 857. ***Rörsch** und **Faßbender,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1874, Bd. 7, S. 1064. ***Rontaler,** St., (1) Arch. f. Hyg., 1895, Bd. 22, S. 312. ***Roscoe-Schorlemmer,** (1) Lehrbuch d. organ. Chemie, Braunschweig 1904, Bd. 9, 7 Teil, S. 442. ***Rosenbach,** (1) Mikroorganismen bei den Wundinfektionskrankheiten des Menschen. Wiesbaden 1884. ***Rothberger,** C. J., (1) Z. f. Hyg., 1900, Bd. 34, S. 79. ***Roux** und **Yersin,** (1) Ann. Pasteur, 1888, Bd. 2, S. 12. ***Rovighi,** Albert, (1) Z. f. physiolog. Chem., 1892, Bd. 16, S. 43. ***Ruata,** G. A., und **Caneva,** G., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1902, Bd. 31, Ref., S. 433. ***Rubner,** M., (1) Arch. f. Hyg., 1893, Bd. 19, S. 136. — (2) Ebenda, 1893, Bd. 16, S. 78. ***Růžička,** St., (1) Arch. f. Hyg., 1899, Bd. 34, S. 149; 1900, Bd. 37, S. 1. ***Salkowski,** E., (1) Z. f. Biologie, 1889, Bd. 7, S. 92; Z. f. physiolog. Chem., 1899, Bd. 27, S. 305. — (2) Lehre vom Harn, S. 26. — (3) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1876, Bd. 9, S. 138 u. 1598; 1877, Bd. 10, S. 842. — (4) Z. f. physiolog. Chem., 1899, Bd. 27, S. 302. — (5) Virchows Archiv, 1885, Bd. 102, S. 578. — (6) Z. f. physiolog. Chem., 1899, Bd. 27, S. 316. — (7) Z. f. Biologie, 1889, Bd. 25, S. 92. ***Salkowski,** H., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1883, Bd. 16, S. 1191 u. 1802; 1898, Bd. 31, S. 776. ***Salkowski,** E. und H., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1879, Bd. 12, S. 648; Z. f. physiolog. Chem., 1885, Bd. 9, S. 491. — (2) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1880, Bd. 13, S. 189 u. 2217. — (3) Ebenda, 1879, Bd. 12, S. 107, 648 u. 1438. — (4) Z. f. physiolog. Chem., 1885, Bd. 9, S. 8. ***Sanarelli,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. 9, S. 193. ***Sanderson,** siehe **Burdon-Sanderson.** ***Sanfelice,** Francesco, (1) Z. f. Hyg., 1892, Bd. 14, S. 339. — (2) Ann. d. Istit. d'Igiene speriment. di Roma, 1892. ***Schepilewsky,** (1) Z. f. Hyg., 1898, Bd. 27, S. 213. ***Scheurlen,** (1) Arch. f. Hyg., 1896, Bd. 26, S. 1. ***Schmelck,** L., (1) Centralbl. f. Bakt., 1888, Bd. 4, S. 545. ***Schmiedeberg** und **Koppe,** (1) Das Muscarin, das giftige Alkaloid des Fliegenpilzes, Leipzig 1869. ***Schmiedeberg** und **Harnack,** (1) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak., 1877, Bd. 6, S. 109. ***Schmitz,** K., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1894, Bd. 19, S. 378. ***Scholl,** H., (1) Arch. f. Hyg., 1892, Bd. 15, S. 210. ***Schottelius,** M., (1) Biol. Unters. üb. d. Micrococcus prodigiosus, Leipzig 1887; Centralbl. f. Bakt., 1887, Bd. 2, S. 439. ***Schrank,** J., (1) Wiener mediz. Jahrb., 1888, S. 303; Centralbl. f. Bakt., 1889, Bd. 5, S. 770. — (2) Hyg. Rundsch., 1895, Bd. 5, S. 1051; Chem.-Ztg., Rep., 1895, Bd. 19, S. 191. ***Schulze,** E., und **Barbieri,** (1) Z. f. physiolog. Chem., 1884, Bd. 9, S. 63; 1892, Bd. 17, S. 193; Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1881, Bd. 14, S. 1785. ***Schumburg,** (1) Z. f. Hyg., 1902, Bd. 41, S. 183. ***Schwanert,** W., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1874, Bd. 7, S. 1332. ***Schweninger,** F., (1) Experim. Studien üb. d. Wirkung faulend. Stoffe auf die tier. Organismen. Gekrönte Preisschrift, München 1866. ***Seelig,** P., (1) Virchows Archiv, 1896, Bd. 146, S. 53. ***Selitrenny,** L., (1) Sitzungsber. d. math.-naturw. Kl. d. Kais. Akad. d. Wissensch. z. Wien, 1889, Bd. 98, Abt. IIb, S. 870. ***Selmi,** Francesco, (1) Sui principii alcaloidi naturali nei visceri, onde puo nascere sospetto di alcaloidi venefici. Memoria letta nel Gennajo 1872 all' Academia delle Scienze dell' Istituto di Bologna; ref. in Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1874, Bd. 7, S. 1641; Selmi: Sulle ptomaine, 1878. ***Senger,** (1) Deutsch. mediz. Wochenschr., 1887, Nr. 33 und 34. ***Sette,** (1) Memoria storico-naturale sull' arrossimento straordinario di alcune sostanze alimentose, osservato nella provincia di Padova l'anno 1819, letta all' Ateneo di Treviso nella sera 28 Aprile 1820. Venezia 1824; Schweiggers Journ. f. Chem. u. Physik, 1827, Bd. 50, S. 396. ***Seyberth,** Adam, (1) Ueber d. Fäulnis d. Blutes im lebenden tierischen Körper. Aus dem Englischen übersetzt von W. Davidson. Berlin 1798. ***Sieber,** N., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1901, Bd. 32, S. 573. ***Sieber,** N.

und **Schumoff-Simanowski,** E., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1902, Bd. 36, S. 244. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1895, Bd. 17, S. 888. ***Silberschmidt,** W., (1) Z. f. Hyg., 1899, Bd. 30, S. 328. ***Simnitzki,** S., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1903, Bd. 39, S. 99. ***Simon,** (1) Hyg. Rundsch., 1892, Bd. 2, S. 205. ***Smith,** Th., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1895, Bd. 18, S. 8. — (2) Ebenda, 1890, Bd. 7, S. 502; 1892, Bd. 11, S. 367. ***Smith,** H., (1) Centralbl. f. Bakt., 1899, Bd. 25, S. 689. ***Smolenski,** P. O., (1) Hyg. Rundsch., 1897, Bd. 7, S. 1226. ***Spiro,** K., (1) Hofmeisters Beitr., 1902, Bd. 1, S. 347. ***Staedeler,** (1) Liebigs Ann., Bd. 77, S. 17. ***Stagnitta-Balistreri,** (1) Arch. f. Hyg., 1893, Bd. 16, S. 10. ***Sternberg,** (1) Medical News, 1887, Bd. 50, Nr. 14. ***Stich,** C., (1) Z. f. Nahrungsmittel-Unters. etc., 1900, Bd. 3, S. 685. ***Stöckly,** F., (1) J. f. prakt. Chem., 1881, Bd. 24, S. 17. ***Strauß,** (1) Berl. klin. Wochenschr., 1896, Nr. 18. ***Sullivan,** M. X., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd. 33, Orig., S. 277. ***Suter,** F., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1895, Bd. 20, S. 564. ***Svoboda,** H., (1) Oesterr. Chem.-Ztg., 1902, Bd. 5, S. 483. ***Tavel,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 23, S. 538. ***Taylor,** A., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1902, Bd. 36, S. 487. ***Thesen,** J., (1) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak., 1902, Bd. 47, S. 311. ***Tissier,** H., (1) Recherches sur la flore intestinale du nourrisson, Paris 1900. ***Tissier,** Henri, und **Gasching,** Pascal, (1) Ann. Pasteur, 1903, Bd. 17, S. 540. ***Tissier,** H., und **Martelly,** (1) Ann. Pasteur, 1902, Bd. 16, S. 865. ***Totsuka,** K., (1) Z. f. Hyg., 1903, Bd. 45, S. 115. ***Trautmann,** H., (1) Z. f. Hyg., 1903, Bd. 45, S. 139. ***Turnball,** (1) Ledermarkt, Bd. 23, Nr. 11 u. 12. ***Uschinsky,** (1) Arch. de méd. expérim., 1893, Bd. 5, S. 293; Centralbl. f. Bakt., 1893, Bd. 14, S. 316. ***Wälchli,** G., (1) J. f. prakt. Chem., 1878, Bd. 17, S. 71. ***Wassermann** und **Takaki,** (1) Berl. klin. Wochenschr., 1898, Bd. 35, S. 5. ***Wasserzug,** E., (1) Ann. Pasteur, 1888, Bd. 2, Nr. 2 und 3; Centralbl. f. Bakt., 1888, Bd. 3, S. 783. ***Weber,** Richard, (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd. 33, Orig., S. 753. ***Wesenberg,** G., (1) Z. f. Hyg., 1898, Bd. 28, S. 484. ***Weyl,** Th., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1879, Bd. 3, S. 154. ***Wilm,** (1) Arch. f. Hyg., 1895, Bd. 23, S. 145. ***Winternitz,** H., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1892, Bd. 16, S. 460. ***Wittlin,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 579; 1897, Bd. 3, S. 400. ***Wolf,** S., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1899, Bd. 25, S. 311. ***Wolff,** H., (1) Hofmeisters Beiträge, 1903, Bd. 4, S. 254. — (2) Virchows Archiv, 1886, Bd. 103, S. 187; 1886, Bd. 104, S. 180. ***Wood,** (1) Proceeddings Roy. Soc. Edinburgh, 1889, Bd. 17, S. 27; ref. Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. 8, S. 266. — (2) Journal Soc. Chemical Industry, 1894, Bd. 13, S. 218. ***Wyß,** Oscar, (1) Z. f. Hyg., 1896, Bd. 27, S. 142; 1897, Bd. 28, S. 162. ***Yokote,** Ch., (1) Arch. f. Hyg., 1904, Bd. 50, S. 118. ***Zimmermann,** O. E. R., (1) Sechster Bericht üb. d. naturw. Ges. z. Chemnitz, 1878; Landw. Jahrbücher, 1878, Bd. 7, S. 755. ***Zörkendörfer,** C., (1) Arch. f. Hyg., 1893, Bd. 16, S. 369. ***Zoja,** L., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1897, Bd. 43, S. 236. ***Zuelzer** und **Sonnenschein,** (1) Berl. klin. Wochenschr., 1869, Bd. 12, S. 121.

(*Manuskript-Einlauf: 19. Mai 1904.*)

5. Kapitel.

Die Nitrifikation.

Von Prof. Dr. S. Winogradsky,

Direktor des Kaiserl. Institutes für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.

(Mit Tafel III—V.)

§ 32. Aeltere Ansichten über die Ursachen der Nitrifikation.

Die Praxis der Nitrifikation ist sehr viel älter als die Theorie. Besonders im achtzehnten Jahrhundert waren Salpeterhütten in ganz Europa eine sehr verbreitete Industrie, welche bis zu einem hohen Grade der Ausbildung gelangt war. Darüber gibt vor allem die im

Jahre 1777 kundgemachte französische amtliche Instruktion (1) zum Anlegen von Salpeterhütten Zeugnis. Man ersieht aus ihr, wie richtig die Empirie die Bedingungen des Nitrifikationsprozesses getroffen hat. Als solche werden angegeben: 1. Die Anwesenheit von organischen stickstoffhaltigen Substanzen, gut gemengt mit locker gelegten Erdschichten; 2. eine möglichst vollkommene Durchlüftung dieser Schichten; 3. ein passender Feuchtigkeitsgrad, welcher durch methodisches Anfeuchten (es wird besonders dazu Urin empfohlen) der Masse zu unterhalten ist; 4. die Anwesenheit von Basen in Form von Kalkstein oder von Seifenwasser aus Waschhäusern etc.

Trotz der gründlichsten Vertrautheit mit den Bedingungen und Merkmalen des natürlichen Nitrifikationsprozesses waren die Ansichten über die wirkenden Ursachen des Vorganges bis ins letzte Drittel des neunzehnten Jahrhunderts gänzlich unklar. Um die Oxydation des Ammoniaks zu Salpetersäure im Boden zu erklären, begnügten sich die hervorragendsten Fachleute auf dem Gebiete der Bodenchemie meistens mit dem Hinweise auf einige chemische Reaktionen, bei welchen diese Oxydation stattfindet, ohne sich aber darum zu kümmern, die Richtigkeit der gegebenen Erklärungen durch direkte experimentelle Nachprüfungen zu stützen. Die Reaktionen, welche man gewöhnlich zur Erklärung heranzog, waren meistens die von Kuhlmann beobachtete Bildung von salpetersaurem Ammon bei Durchleitung von Ammoniak mit Luft durch eine Röhre mit erwärmtem Platinschwamm und die von Dumas angegebene Salpeterbildung durch Einwirkung von mit Kalilauge befeuchteter Kreide ebenfalls auf ein Gemenge von Luft mit Ammoniak bei 100° C. Nun wurde als naheliegend angenommen, daß der Boden durch seine Porosität ähnliche Wirkungen wie der Platinschwamm hervorrufen könne, ebenso, daß der Kalkgehalt des Bodens in ähnlicher Weise wie in dem Dumas'schen Versuch eine Rolle dabei spielen müsse. Nach Entdeckung des Ozones durch Schönbein wurde auch dieser Körper für alle Art von natürlichen Oxydationsprozessen, darunter die Nitrifikation, ohne weiteres verantwortlich gemacht. So sagt Mulder (1, S. 250), indem er die verschiedenen, bei der Salpeterbildung wirkenden Ursachen bespricht: „. . . in der Tat haben Untersuchungen gelehrt, daß Ozon das Ammoniak zu Salpetersäure und Wasser oxydieren kann. Seit diese wichtige Tatsache feststeht, ist die Nitrifikation hinlänglich aufgeklärt und manche besondere Umstände, welche für die Ackerkrume von wichtigem Einfluß sind. Ozon verschwindet, wo verwesende Körper anwesend sind, und dasselbe oxydiert das Ammoniak dieser zu Salpetersäure." Und weiter (1, S. 253): „. . . alle Versuche, wobei ein poröser Körper chemisch wirksam auftritt, d. i. als ein *tertium agens*, der verbindet, ohne selbst in Verbindung aufgenommen zu werden, sind für unseren Gegenstand wichtig, *weil die Ackerkrume, wenn sie fruchtbar sein soll, porös und, wie man sagt, für die Luft zugänglich sein muß* (Kursiv im Orig.) . . . Die Luftschicht, auf porösen Gegenständen verdichtet, muß den darin enthaltenen Sauerstoff aktiver machen . . . und verdichtet derselbe poröse Körper nun darauf Ammoniak, so läßt sich die Vorstellung einer Reaktion dieser beiden verdichteten Schichten, welche zusammen in Kontakt sind, bilden. Aber das Alkali (bei den Versuchen von Dumas Kalk und Kali), nun hier durch Wärme unterstützt, ist nicht ohne Einfluß. Früher nannte man es prädisponierende Verwandtschaft, die etwas ausdrückte, was in der Tat jedesmal auftritt, nämlich, daß eine Wirkung entweder

geweckt oder befördert wird, wenn Substanzen anwesend sind, welche mit einer im Entstehen begriffenen Verbindung sich unmittelbar vereinigen können."

Wir führen absichtlich dieses längere Citat an, weil sich darin in typischer Weise die Ideen und die Beweisführung einer der mikrobiologischen Aera vorausgegangenen ganzen Periode wiederspiegeln. Wenn wir noch der Ansicht von Liebig (1, S. 315) Erwähnung tun, wonach, im Einklange mit dessen bekannter Lehre, auch „die Oxydation des Ammoniaks zu Salpetersäure nicht von selbst, sondern nur bei Gegenwart einer anderen in Verwesung, d. i. im Zustande der Sauerstoffaufnahme begriffenen organischen Substanz" vor sich geht, so haben wir die Theorie der Nitrifikationsprozesse in der Zeit vor Pasteur ziemlich erschöpft.

Bevor wir nun zu der großen Wendung in der Lehre von der Nitrifikation übergehen, müssen wir noch die wichtigen Beobachtungen und experimentellen Untersuchungen von Boussingault (1) erwähnen, welche vom Jahre 1860—1878 veröffentlicht worden sind. In einer Reihe von Arbeiten behandelt er manche wichtige, auf die natürliche Salpeterbildung bezügliche Frage, so die natürlichen Salpeterlager in Peru und Ecuador, welche er an Ort und Stelle untersucht hat, den Gang des Nitrifikationsprozesses in der Ackererde, den Gehalt von verschiedenen Böden und Gewässern an Salpeter usw. Zwei seiner Arbeiten, welche sich auf den Chemismus der Nitrifikation beziehen, werden wir kurz besprechen. In der einen (Sur la nitrification dans la terre végétale) wirft er (2) die folgende Frage auf: alles weise darauf hin, meint er, daß in der Ackererde, wie in Salpeterplantagen, die Bildung von Salpetersäure auf Kosten des Stickstoffes organischer Substanzen vor sich gehe. Längst haben Salpetersieder erkannt, daß Blut, Urin und allerlei animalischer Detritus die Bildung von Salpeter außerordentlich begünstige; doch aus dem Umstande, daß die Ackererde gebundenen Stickstoff enthält, läßt sich nicht mit Notwendigkeit folgern, daß gasförmiger Stickstoff gar keinen Anteil an der Salpeterproduktion nehmen könnte. Um dies zu entscheiden, ließ er verschiedene Bodenproben mit bekanntem Stickstoffgehalte in verstopften, 100 Liter fassenden Behältern 11 Jahre aufbewahren und überzeugte sich, daß trotz energischer Salpeterbildung keine Zunahme der totalen Stickstoffmenge Platz griff. Daraus schließt er, daß der Luftstickstoff keinen Anteil an der Salpeterbildung nahm, sondern daß diese ausschließlich auf Kosten von organischen Substanzen vor sich ging. In einer anderen Arbeit berichtet er (3) über vergleichende Versuche mit verschiedenen Düngerarten, eingebettet einerseits in Ackererde andererseits in reinem Sand und in Kreide. Das Ergebnis ging dahin, daß nur in der Erde eine energische Nitrifikation aller Art Düngstoffe stattfand, nicht aber im Sande und in der Kreide, woraus Boussingault schließt, daß bei diesem Prozesse offenbar eine spezielle Wirkung der Erde vorliegt, deren die anderen Einbettungsmittel nicht fähig sind. Daß dieses Resultat den herrschenden Theorien widersprach, wonach bei der Nitrifikation die Porosität der Einbettungsmittel eine wesentliche Rolle spiele, hat Boussingault mit keinem Worte erwähnt, was die große Zurückhaltung kennzeichnet, mit welcher er sich gegenüber den herrschenden Ansichten verhielt. Er vermied jede Kritik dieser Ansichten aufs peinlichste, enthielt sich überhaupt vollständig jeder Aeußerung über die Ursachen des Prozesses. Trotzdem aber daß diese Fragen in seinem Werke vollständig im Schatten geblieben

sind, haben seine Arbeiten unzweifelhaft mächtig dazu beigetragen, den Weg für künftige Forschungen zu ebnen.

§ 33. Die biologische Wendung.

Zu dieser Zeit (1878) waren schon PASTEUR's bahnbrechende Arbeiten weit vorgeschritten. Eine Reihe von Gärungen waren schon untersucht, darunter auch, als eine der frühesten (1862), die Essiggärung. Bezüglich der letzteren waren die herrschenden Ansichten denen über die Nitrifikation analog: man berief sich auf die Oxydation der Alkoholdämpfe mittelst Platinschwamm und wollte auch hier, insbesondere bei dem Verfahren der Schnellessigfabrikation, die Wirkung poröser Körper deutlich beobachten. Nun wies PASTEUR nach, daß diese Erklärungen unbegründet sind und daß die Oxydationswirkung der Tätigkeit eines bestimmten Kleinlebewesens zuzuschreiben ist. Eine Reihe anderer Oxydationswirkungen durch Mycodermen (Kahmhaut bildende Mikroorganismen) und Schimmelpilzen waren ihm auch schon bekannt, und es schien naheliegend, damit auch die Nitrifikation in Zusammenhang zu bringen, einen Prozeß, der auf Kosten von organischen, stickstoffhaltigen Substanzen sich abspielt und, was Temperatur, Feuchtigkeit und Lüftung betrifft, ganz wie andere biologische Prozesse sich verhält. Das tut PASTEUR (1) schon im Jahre 1862 in seiner Mitteilung betreffend Mycodermen. Diese Pflanzen, meint PASTEUR, hätten nicht nur die Eigenschaft, Bewirker der Verbrennung von Alkohol zu Essigsäure zu sein, sondern sie könnten den Luftsauerstoff auch auf verschiedene andere Substanzen, wie Zucker, organische Säuren, Alkohole, Eiweißstoffe usw. übertragen. An diesen Satz anknüpfend, fügt er in einer Fußnote wörtlich hinzu: „. . . es scheint mir notwendig, vom Standpunkte dieser neuen Ideen das Studium von allem, was die Nitrifikation betrifft, wieder aufzunehmen“.[1])

Es verflossen aber 15 Jahre, bis sich Forscher fanden, welche dem Winke PASTEUR's folgten. Zwar vertrat AL. MÜLLER (1) dieselbe Idee und führte in seiner im Jahre 1873 erschienenen Abhandlung eine Reihe von Beobachtungen an, welche zugunsten einer Organismenwirkung sprachen: doch ist er nicht dazu gekommen, die Fermenthypothese experimentell zu prüfen. Das haben erst SCHLOESING und MÜNTZ im Jahre 1878 getan.

Ein Schüler BOUSSINGAULT's, hatte SCHLOESING (1) schon in der von seinem Lehrer vorgezeichneten Richtung dem Chemismus des Nitrifikationsprozesses im Boden eine experimentelle Studie gewidmet, als er den Auftrag erhielt, nach Mitteln zu suchen, um die Pariser Abwässer in den Berieselungsfeldern von Gennevilliers bei Paris unschädlich zu machen. Das gab den Anstoß zu ausgedehnteren gemeinsamen Versuchen mit MÜNTZ (1) über die Nitrifikation. Die Versuche wurden so angestellt, daß diese Forscher durch eine weite, bis 1 m lange, mit Quarzsand und etwas Kalk gefüllte Röhre Abfallwässer, deren Ammoniakgehalt genau bestimmt worden war, langsam hindurchfließen ließen. Erst nach 20 Tagen begann die Salpeterbildung und nahm so rasch zu, daß zuletzt gar kein Ammoniak mehr auftrat. Als nun aber der Röhreninhalt mit Chloroformdämpfen geschwängert wurde, hörte die Salpeterbildung sofort auf. In dieser Weise

---

[1]) „Il me parait nécessaire de reprendre, au point de vue de ces nouvelles idées, tout ce qui concerne la nitrification.“

wurde der Versuch 14 Tage lang fortgesetzt und hierauf die Wirkung des Chloroforms wieder beseitigt, was nur allmählich gelingen wollte. Trotzdem wurde in den darauf folgenden 4 Wochen keine Salpetersäure mehr gebildet. Nach Ablauf dieser Zeit brachte man ein wenig
5 wässerigen Auszug von Gartenerde auf den Sand der Röhre, und von nun an trat die Salpeterbildung wieder regelmäßig ein. In einer zweiten Arbeit wurde die Einwirkung von Chloroform auf verschiedene Ackererden studiert, deren großes Nitrifikationsvermögen bekannt war. Die Salpeterbildung hörte in der chloroformierten Erde sofort auf, während
10 sie in den anderen Proben ungeschwächt fortging. Um ferner festzustellen, ob Ackererde ihr Nitrifizierungsvermögen beim Erhitzen auf 100° einbüßt, wurden verschiedene Erdproben auf diese Temperatur erhitzt und dann wurde Luft hindurchgeleitet, welche vorher glühende Metallröhren hatte durchströmen müssen. Nach einiger Zeit wurde er-
15 mittelt, daß alle erhitzten Röhren das Nitrifizierungsvermögen verloren hatten, die anderen hingegen nicht. Um festzustellen, ob ein auf 100° erhitzter Boden sein Nitrifizierungsvermögen durch Beimpfung wieder gewinnt, wurde ein Gemenge von Humus, Quarzsand und Kalk in zwei Gefäße gebracht und beide eine Zeitlang auf diese Temperatur erhitzt.
20 Hierauf wurde der Boden in dem einen Gefäß mit einigen Kubikcentimetern Wasser versetzt, in welchem man 1 g Ackererde verteilt hatte; das andere Gefäß blieb hiervon frei, und die Luft beider wurde durch ausgeglühte Luft erneuert. Die infizierte Probe lieferte nach einiger Zeit eine reichliche Menge Salpetersäure, die andere blieb davon
25 frei. Daß nicht die Porosität des Mediums die Nitrifikation bedingt, wurde durch die Feststellung dargetan, daß der Prozeß auch in Flüssigkeiten, nämlich in Spüljauche mit etwas Kalk, vor sich gehen kann. Fortgesetzte Untersuchungen in dieser Richtung haben, wie wir aus einer dritten Mitteilung erfahren, nun erwiesen, daß einige Schimmel-
30 pilze und Mycodermen (*Penicillium glaucum*, *Aspergillus niger*, *Mucor mucedo* und *M. racemosus*, *Mycoderma aceti* und *M. vini*), welche eine energische Oxydation organischer Körper bewirken können, Salpeter nicht bilden. Daraus schließen die Forscher, daß „die Funktion, gebundenen (sei es ammoniakalischen oder organischen) Stickstoff zu
35 nitrifizieren, nicht allen Organismen zukommt, welche die Verbrennung organischer Stoffe vermitteln, sondern eine spezifische Eigenschaft einer bestimmten Gruppe von Wesen zu sein scheint, welche wir in allen nitrifizierenden Medien bemerkt haben“. In einer vierten Mitteilung geben sie an, den Nitrifikationserreger („ferment
40 nitrique“) in geeigneten Flüssigkeiten gezüchtet zu haben. Sie beschreiben ihn als längliche Körperchen, welche in Nährböden, welche an organischen Substanzen reicher sind, größer, in daran armen hingegen kleiner sind; sie sollen sich durch Sprossung vermehren und einige Analogie mit der „Essighefe“ haben usw. In einer fünften Mitteilung
45 endlich geben SCHLOESING und MÜNTZ die Bedingungen an, welche die Bildung von Nitraten entweder begünstigen oder aber hemmen. Bei 5° C ist der Prozeß kaum merklich, bei 12° schon gut merklich, bei 37° ist die höchste Wirkung zu verzeichnen, bei 45° wird schon Hemmung bemerkbar, bei 55° Stillstand. Lüftung begünstigt
50 den Prozeß; doch wird er im Boden schon in einer 1.5 Proz. Sauerstoff enthaltenden Atmosphäre möglich. Eine kohlensaure Base ist notwendig, am besten wird kohlensaurer Kalk gewählt; im Falle daß ein lösliches kohlensaures Alkali verwendet wird, darf die Konzentration

2—5 Promille nicht übersteigen. Verschiedene organische Stoffe können als Nährstoffe für den Nitrifikationserreger dienen, so Zucker, Glycerin, Alkohol, Weinsäure, Eiweiß usf., und sollen für seine Züchtung notwendig sein; doch zu viel von diesen Substanzen sei ungünstig und hemme den Prozeß. Zum Schlusse wird erwähnt, daß in Lösungen die Bildung von Nitriten eine häufige Erscheinung ist, was man im Boden nur selten bemerke. Dieses soll im allgemeinen als Folge jeder Hemmung des Oxydationsprozesses, sei es durch unpassende Temperaturen oder ganz besonders durch mangelhafte Lüftung, auftreten.

Die neue Wendung in der Nitrifikationsfrage hat eine Reihe von Arbeiten hervorgerufen, welche die Prüfung der Resultate von Schloesing und Müntz, resp. das Studium der Nitrifikation als eines biologischen Vorganges, zum Gegenstande hatten. Als erster wiederholte Warington (1) die Versuche der französischen Forscher und bestätigte, erstens, daß antiseptische Stoffe die Nitrifikation im Boden hemmen, und zweitens, daß auch in ammoniakalischen Lösungen, gleichsam durch Einsaat, eine Nitrifikation hervorgerufen werden kann. In den darauffolgenden zwei Abhandlungen berichtet Warington sehr ausführlich über zahlreiche Nitrifikationsversuche in wässerigen Ammoniaklösungen, wobei er verschiedene Beobachtungen über den Gang des Prozesses und die für ihn günstigen resp. ungünstigen Bedingungen anstellte. Da er jedoch dabei, ebenso wie Schloesing und Müntz, mit zufälligen Organismengemengen experimentierte, wobei es ihm auch nicht glücken wollte, die Bedingungen zu treffen, welche den spezifischen Organismen wenigstens das Uebergewicht zu sichern vermöchten, so können die Einzelheiten seiner Befunde kaum unser Interesse weiter beanspruchen. Doch seinerzeit haben sie unzweifelhaft dazu beigetragen, die Richtigkeit der Auffassung der Nitrifikation als biologischen Vorgang über jeden Zweifel zu erheben. Auch sind durch Warington's Beobachtungen interessante Fragen gestellt worden, welche in hohem Maße Berücksichtigung von seiten künftiger Forscher verdienten, jedoch zunächst, wie wir sehen werden, keine fanden. Es waren dies: 1. Die Frage über den Einfluß organischer Nährstoffe auf die Nitrifikation. 2. Ueber die häufige Bildung von Nitriten bei dem Prozesse. 3. Ueber die Nitrifikation des organischen Stickstoffes.

Bei den meisten seiner Versuche bediente sich Warington einer mit anorganischen Salzen und Kreide beschickten Ammoniumchlorid-Lösung, welche er mit „organischem Kohlenstoff“ in Form von Kalium-Natrium-Tartrat versetzte. Dabei beobachtete er, daß es gar keinen Vorteil bietet, die Menge dieser Substanz über eine sehr unbedeutende Gabe hinaus zu steigern. Wählte er Rohrzucker anstatt Tartrat, so schien sogar eine deutlich hemmende Wirkung auf die Nitrifikation die Folge zu sein. Eine Erklärung dieses so merkwürdigen und unerwarteten Verhaltens der hypothetischen Nitrifikationsmikroben konnte Warington nicht versuchen, da diese Organismen ihm ganz unbekannt waren.

Was nun die Bildung von Nitriten betrifft, so beobachtete Warington, daß das Ergebnis der Nitrifikation sehr ungleichartig ausfällt: es wird bald salpetrige Säure, bald Salpetersäure in wechselnden Mengen gebildet. Selten kommt es vor, daß ausschließlich Nitrate beim Prozesse auftreten; viel häufiger geht der Nitratbildung eine mehr oder weniger ergiebige Nitritbildung voran. Die entstandenen Nitrite sind bald sehr beständig, bald gehen sie ziemlich rasch in Nitrate über. Unter Um-

ständen scheint das „Nitrifikationsferment" nur fähig, Nitrite hervorzubringen, und es geht ihm die Eigenschaft, diese dann weiter zu oxydieren, gänzlich ab. Mit Recht bemerkt WARINGTON, daß die von SCHLOESING und MÜNTZ gegebene Erklärung dieser noch ganz dunklen 5 Erscheinungen, es sei die Nitritbildung durch ungünstige Temperatur und Mangel an Sauerstoff bestimmt, ungenügend sei, und meint hingegen, daß das Ergebnis der Nitrifikation vorzugsweise mit dem Zustande oder dem Charakter des „Ferments" in irgendwelchem Zusammenhange stehen müsse.

10 Was schließlich die Nitrifikation des organischen Stickstoffes betrifft, so schließt WARINGTON aus einer Reihe von Versuchen mit Urin, Milch und Asparagin, daß diese Substanzen nitrifizierbar seien, doch gehe der eigentlichen Nitrifikation immer eine Ammoniakbildung voran. Es scheine also, daß, streng genommen, der Ammoniakstickstoff allein, 15 und gerade in der Form von Ammoniumkarbonat direkt nitrifizierbar sei, und daß also nur solche organische Substanzen zur Salpeterbildung dienen können, welche Ammoniak zu liefern vermögen. Obgleich nun diese Erkenntnis wohl den Keim einer richtigen Definition des Nitrifikationsprozesses enthielt, hat es WARINGTON doch nicht so weit gebracht, 20 sie weiter auszubilden und die Ammoniakbildung als einen von der Nitrifikation verschiedenen und von andersartigen Organismengruppen bedingten Prozeß zu trennen.

Das Auseinanderhalten dieser zwei Stufen bei dem Nitrifikationsprozeß im weiteren Sinne, nämlich der Ammoniakabspaltung und der 25 Ammoniakoxydation, tritt deutlicher in der Arbeit von MUNRO (1) hervor, welcher die Versuche von WARINGTON wiederholte. MUNRO spricht sogar von ammoniakbildenden und von nitrifizierenden „Fermenten". Und obgleich er weder die einen noch die anderen kannte, hat er sich doch eine richtige Vorstellung über einen gewissen Gegensatz zwischen 30 beiden bilden können. So merkte er schon, daß bei Anwesenheit organischer Substanzen deren Zersetzung die Oberhand gewinnt und die Nitrifikation zurückdrängt, wobei sogar der schon fertig gebildete Salpeter einer Reduktion unterliegt. Selbst so einfache Stoffe wie Oxalate und Tartrate üben, meint MUNRO, wenn nicht gewöhnliche 35 Bakterienkeime irgendwie ausgeschlossen sind, nur einen schädlichen Einfluß auf die Nitrifikation aus. So wurde er vor die Frage gestellt: ist organischer Kohlenstoff für die Nitrifikation überhaupt notwendig? Er entscheidet sie in dem Sinne, daß die kleinsten Spuren von organischen Substanzen, welche im Fluß- oder Quellwasser sich befinden oder 40 mit dem Staub in die wässerigen Lösungen gelangen, für die Nitrifikation vollständig genügen und daß weitere Zusätze dem Prozeß nur hinderlich sein können.

§ 34. Das Auftreten der modernen Bakteriologie.

Soweit hatten die Agrikulturchemiker die Nitrifikationsfrage bis zum 45 Jahre 1886 gebracht. Ziehen wir das Ergebnis aus all ihrem Forschen, so stand, streng genommen, nur das Eine fest: daß die Ammoniakoxydation auf irgendwelche Weise mit der Lebenstätigkeit der Bodenorganismen zusammenhängt. Die weitere Frage, ob es spezifische Nitrifikationserreger gibt, blieb noch gänzlich unangegriffen. Allerdings war bei 50 französischen wie auch bei englischen Forschern häufig von einem

„ferment nitrique" resp. „nitric ferment" die Rede, jedoch verhielt man sich in Deutschland dazu mit Recht sehr zurückhaltend. Wohl gibt R. SACHSSE (1) einer damals bei den deutschen Agrikulturchemikern sehr verbreiteten Auffassung Ausdruck, wenn er meint, daß „die Versuche von SCHLOESING und MÜNTZ und seinen Nachfolgern ebenso verständlich bleiben, wenn man von der Hypothese eines speziellen Salpetersäurefermentes absieht"... „Sind die Fäulnis- und Verwesungsprozesse im Boden, fährt er fort, eine mächtige Quelle für Ozonbildung, so ist auch dadurch die Möglichkeit für die Oxydation des Ammoniaks zu Salpetersäure gegeben.... Die Fäulnis- und Verwesungsfermente sind dann nur indirekt an der Salpeterbildung beteiligt, man versteht aber, daß mit ihrer Abtötung durch antiseptische Mittel auch jener Prozeß wesentlich beschränkt werden wird, sofern dadurch auch die Erzeugung von Ozon zum Stillstand gebracht wird."

Es waren so von diesem Zeitpunkte an die Bakteriologen vor die interessante Aufgabe gestellt, das Dasein der hypothetischen Nitrifikationsfermente nachzuweisen und sie rein zu züchten. Dank ROBERT KOCH und seiner einfachen und sicheren Methodik schien es nun keine schwierige Aufgabe mehr, beliebige und besonders so weit verbreitete „Saprophyten" aus irgend einer natürlichen Probe zu isolieren. Es hat auch nicht an Untersuchungen in dieser Richtung gefehlt. Das Jahr 1886 brachte vier Arbeiten, jedoch unerwarteterweise keine Lösung der schwebenden Frage. FRANK (1), CELLI und MARINO-ZUCO (1) und ADAMETZ (1) hatten nur negative Resultate zu verzeichnen: aus einer Reihe von Organismen, welche aus Böden und Gewässern reingezüchtet worden waren, zeigte keiner ein deutliches Nitrifizierungsvermögen.

Nur HERAEUS (1) wollte sich damit nicht begnügen und brachte einige wenig begründete positive Befunde vor, deren Besprechung wir auch jetzt nicht umgehen wollen, da sie uns Gelegenheit geben werden, einige beim Studium der Nitrifikation zu berücksichtigende Untersuchungsfehler zu besprechen. HERAEUS hatte sich die Aufgabe gestellt, aus Luft, Wasser und Boden eine Anzahl von Bakterienarten auszuscheiden und deren Wirkung auf Ammoniak und Salpetersäure zu prüfen. Durch das bekannte Züchtungsverfahren auf Nährgelatine wurden aus diesen Proben insgesamt zwölf Bakterienarten gewonnen. Es zeigte jedoch keine von ihnen eine oxydierende Wirkung auf Ammoniak, obgleich zwei von diesen Arten in ungeheuren Mengen im Boden verbreitet waren. Um die gesuchten Wesen dennoch aufzufinden, wurde Erde in ammoniakhaltiges Wasser eingeimpft und, nach Eintreten einer kräftigen Nitrifikation, aus dieser Flüssigkeit wieder zwei Arten mit Hilfe des Plattenverfahrens abgeschieden. Es nitrifizierte jedoch keine. Impfte man aber einfach etwas Bakterienhaut aus dem Erdeaufguß, so wurden bald quantitativ bestimmbare Mengen von salpetriger Säure gebildet. In einer weiteren Versuchsreihe benutzte HERAEUS dieselben zwei Arten aus dem Erdeaufguß und zwei neue aus einem alten Harn, der eine Salpetrigsäurereaktion zeigte. Das Resultat war eine eben merkbare Jodstärkereaktion nach 3 Tagen und eine deutliche nach 6; doch waren nur Spuren von Nitrit vorhanden, so daß eine quantitative Bestimmung nicht möglich war. Trotzdem scheint HERAEUS dieses Resultat als ein positives zu betrachten. Um dann weiter zu untersuchen, ob auch andere Arten dieselbe schwache „Nitrifikationsfähigkeit" besäßen, impfte er aufs Geratewohl eine Reihe von bekannten Arten, wie *Micrococcus prodigiosus*, Typhusbazillen, Käsespirillen, FINKLER'sche Spirillen, Milzbrandbazillen,

Staphylokokken u. a., in verdünnten Harn ein und beobachtete tatsächlich nach einigen Tagen eine Bläuung mit Diphenylamin. Nach diesen Versuchen glaubte Heraeus getrost, schließen zu können, daß spezifische Nitrifikationserreger nicht existieren, daß aber eine größere Anzahl von Bakterien befähigt sind, zu nitrifizieren.

Der nächste Gedanke, welcher sich einem Geschichtsschreiber der Nitrifikation nach dem Lesen dieser Arbeit aufdrängt, ist der, daß es den Agrikulturchemikern zwar an Methoden fehlte, um die spezifischen Organismen zu entdecken, daß jedoch die Kenntnis der natürlichen Nitrifikationsvorgänge sie immer auf dem richtigen Wege hielt. Umgekehrt konnte in dem Falle eines Bakteriologen selbst die sicherste Handhabung der vollkommensten Züchtungsverfahren bei mangelnder Vertrautheit mit den allgemeinen Fragen über Salpeterbildung in der Natur nicht vor einem vollständigen Irregehen, gleich bei der ersten Schwierigkeit, bewahren. Heraeus wußte offenbar nichts darüber, daß Flüssigkeiten, besonders alkalische, an der Luft leicht Spuren von Salpeter- und salpetriger Säure aufnehmen, welche bei einer Menge von Prozessen entstehen: so bei elektrischer Entladung, bei Verdampfung von Wasser, bei der Verbrennung. Ueber diese Entstehungsarten von Salpeter in der Natur gibt es eine schon alte und sehr umfangreiche Literatur, deren Zusammenstellung und kritische Beleuchtung insbesondere in einer Arbeit von A. Baumann (1) zu finden ist. Diesem Autor zufolge ist die Verbrennung von Leuchtgas die ergiebigste Quelle von Stickstoffsäuren in der Luft unserer Laboratorien. In der Tat, lasse man nur eine alkalische Flüssigkeit, insbesondere eine Ammoniumkarbonatlösung, in einem offenen Gefäße in der Nähe eines Bunsenbrenners stehen, so wird sie schon nach wenigen Stunden eine ansehnliche Reaktion mit Diphenylamin geben. Da wir zudem äußerst empfindliche Reagentien zur Prüfung auf die Stickstoffsäuren gebrauchen, so ist es klar, daß man sich hüten muß, über Organismenwirkung zu sprechen, sobald man eine Bläuung mit Jodstärke oder Diphenylamin konstatiert hat. Das, was uns erst Grund gibt, auf Nitrifikation in der Flüssigkeit zu schließen, ist die Beobachtung, daß der Prozeß, wenn er einmal einsetzt, mit einer gewissen Stetigkeit bis zur vollständigen Umwandlung des Ammoniaks in Nitrit bzw. Nitrat fortschreitet, wobei nicht nur quantitativ bestimmbare sondern auch relativ bedeutende Mengen davon entstehen. Will man sich aber begnügen, nur nach dem Auftreten einer schwachen Diphenylamin- oder Jodstärkereaktion über eine stattgefundene Nitrifikation zu urteilen, so müssen die Kulturflüssigkeiten vor der Aufnahme von Stickstoffsäuren aus der Luft geschützt werden; oder es müssen steril gehaltene Kontrollversuche zum Vergleiche herangezogen werden.

Heraeus scheint sich dieser Fehlerquellen gar nicht bewußt gewesen zu sein; und so müssen wir seinen Angaben, da sie den gestellten Anforderungen nicht genügen, jede Glaubwürdigkeit absprechen. Es kann weiter keinem Zweifel unterliegen, daß in seinen Versuchen, zu denen verdünnter Harn als nitrifizierbares Medium gebraucht wurde, die geringen Mengen von Nitrit nicht als Folge einer Oxydation von Ammoniak sondern als Ergebnis einer Reduktion der stets im Harn in geringen Mengen vorhandenen Nitrate zu deuten sind. So erklärt es sich, wie dem *Micrococcus prodigiosus*, den Käsespirillen und einer Anzahl pathogener Keime ein Nitrifizierungsvermögen von Heraeus zugeschrieben worden ist, wovon die bezeichneten Arten keine Spur besitzen, wie

übrigens auch alle anderen, von diesem Forscher aus allen natürlichen Proben abgeschiedenen Mikrobenarten.

Wir sahen uns in die Notwendigkeit versetzt, auf die Irrigkeit dieser Angaben mit besonderem Nachdruck hinzuweisen, weil die besprochene Arbeit während einer Reihe von Jahren in einer Anzahl von Lehrbüchern als maßgebend in der in Rede stehenden Frage citiert worden ist, so von Flügge, Die Mikroorganismen, 2. Aufl. 1886, S. 565; von Gotschlich, in Flügge's Mikroorganismen, 3. Aufl., Bd. I, S. 252. Noch in dem seit 1902 erscheinenden Handbuch der pathogenen Mikroorganismen meint Gotschlich (Artikel: Allgemeine Morphologie und Biologie, S. 92): „es kommt auch Nitratbildung durch pathogene Keime vor; so hatte Heraeus in 4-fach verdünntem Harn positive Befunde bei Milzbrand- und Typhusbazillen, sowie beim Finkler-Prior'schen *Vibrio* usw."

Indessen blieb trotz negativer Befunde die Ueberzeugung bestehen, daß ein spezifischer Nitrifikationserreger doch existieren muß, und es wurde nach ihm eifrig weiter gefahndet. So von Frank (2), dann von Warington (2), noch später von P. und G. Frankland (1). Es wurde wieder eine lange Reihe von Mikroorganismen aus dem Boden und aus Wasser isoliert und ihre Wirkung auf Ammoniak und Nitrate sorgfältig studiert. Nitrat reduzierende fand man immer genug, Ammoniak oxydierende aber keine, trotzdem es stets leicht gelang, einen kräftigen Nitrifikationsprozeß durch Einführung von etwas Erde in eine ammoniakalische Lösung hervorzurufen. Die Stetigkeit der negativen Befunde veranlaßte sogar einen Rückschlag in den Ansichten über die Ursache der Nitrifikation und einen Versuch von seiten Frank's, die biologische Auffassung zu verurteilen und zu den alten rein chemischen Deutungsweisen wieder zurückzukehren. Der Versuch hatte keinen Erfolg und konnte gegenüber der Kritik der Agrikulturchemiker nicht standhalten, von deren Arbeiten die bemerkenswertesten jene von Plath (1), von Baumann (1) und von Landolt (1) sind, welche aufs neue durch unerschütterliche Beweisgründe dargetan haben, daß die Nitrifikation ein physiologischer Vorgang ist, aber freilich unsere Kenntnisse von den dabei wirkenden Bodenmikroben um keinen weiteren Schritt fördern konnten.

§ 35. Die Entdeckung der Nitrifikationsorganismen.

So stand die Frage im Jahre 1888. Trotz der erdrückenden Zahl von negativen Befunden war doch das Bestehen von spezifischen Nitrifikationserregern kaum in Zweifel zu ziehen. Denn es ist klar, daß es, je mehr sich die negativen Befunde häuften, desto unwahrscheinlicher wurde, daß das Nitrifizierungsvermögen in der Mikrobenwelt weit verbreitet ist. Es drängte sich vielmehr die Annahme auf, daß dieses Vermögen eine Eigentümlichkeit weniger resp. einer einzigen Spezies ist, deren man eben nicht habhaft werden konnte. Die Ursache des Mißerfolges war demnach in den ungeeigneten Untersuchungsverfahren zu suchen. Die Koch'sche Methodik, die so glänzende Beweise ihrer Leistungsfähigkeit eben gegeben hatte, als eine nicht für die Untersuchung jeglicher bakterieller Wesen geeignete zu bezeichnen, war damals noch ein zu großes Wagnis; und der Gedanke, daß diese Methodik, wie auch jede andere, doch ihre Grenzen habe, die ja noch unerforscht sind, war den Bakteriologen noch nicht geläufig. Das Vertrauen zu ihr war viel-

mehr so groß, daß man, wenn mit ihrer Hilfe aus irgendeinem Substrat sich nichts herauszüchten ließ, getrost auf die Abwesenheit der gesuchten Organismen schloß. Es ist klar, daß eine derartige Annahme, sobald es sich um einen Organismus *mit unbekannten Eigenschaften* handelte, außerordentlich leicht irreführen konnte. In der Tat, man wußte längst, daß es ein leichtes ist, eine kräftige Nitrifikation in einer ammoniakalischen Lösung durch Einsaat von einer Spur Erde hervorzurufen. Versuchte man aber, daraus durch das Plattenverfahren die wirkende Art herauszuzüchten, so erhielt man nur gänzlich unwirksame Reinzuchten. Welche Erklärung ist natürlicher als diejenige, daß der Nitrifikationserreger in der Gelatine einfach nicht aufkommen konnte, und daß von ihm, sobald man diese Züchtungsart versuchte, jede Spur sofort verloren ging?

Das waren die Erwägungen, welche mich im Jahre 1889 bewogen haben, die Frage mit Hilfe eines von jedem hergebrachten Rezepte unabhängigen Verfahrens wieder aufzunehmen. Uebrigens stand diese Frage in meinem Programm seit meinen Untersuchungen über Schwefelbakterien und Eisenbakterien (1885—1888). Die Tatsache, daß es Organismen gibt, deren Rolle darin besteht, Schwefelwasserstoff resp. Eisenoxydul zu oxydieren, war ja im höchsten Grade geeignet, auf den Gedanken zu führen, daß es auch solche geben müsse, welche eine so reiche Energiequelle, wie das in der Natur so verbreitete Ammoniak es ist, ausnützen könnten. Wenn dem aber so ist, so war zu erwarten, daß diese Organismen in den Hauptzügen auch dieselben Eigenschaften zeigen werden, welche den Wesen, welche anorganische Substanzen oxydieren, eigen sind. Man trat auf diese Weise an die gestellte Aufgabe mit einer von diesen vorgefaßten Ideen heran, welche unter Umständen die Arbeit ungemein erleichtern, und tatsächlich gelang es nach verhältnismäßig kurzer Arbeitszeit, die vielgesuchten Nitrifikationserreger endlich aufzufinden und das Studium der Nitrifikation in sicherere Bahnen zu lenken.

Der Gang der Untersuchung, welcher zu diesem Ergebnisse geführt hat, war folgender. Als erste Aufgabe wurde die Erforschung der Bedingungen gestellt, unter welchen die Nitrifikation in einer ammoniakalischen Lösung am sichersten hervorzurufen ist und am besten vor sich geht, Reduktionsvorgänge dagegen gar nicht Platz greifen können. Dann wurde eine lange Reihe von Umzüchtungen vorgenommen, um die fremden Organismen, denen der gewählte Nährboden ohnehin ungünstig war, womöglich zu eliminieren. Erst nach dieser längeren vorläufigen Züchtungsdauer, welche dem spezifischen Erreger die Oberhand sichern sollte, wurde zur mikroskopisch-bakteriologischen Analyse und zur Sonderung der die Lösungen bewohnenden Arten geschritten. Kurz, es wurde hier das *Prinzip der elektiven Kultur* angewandt, welches zwar keine allgemein gültigen Rezepte geben kann und höhere Anforderungen an den Beobachter stellt, jedoch wohl berufen ist, in manchen, vorzugsweise absonderlichen Fällen sicher zum Ziele zu führen.

Da es sich sofort herausstellte, daß organische Nährstoffe ganz entschieden die Nitrifikation hemmen, so wurden sie von der Nährlösung ferngehalten, wobei man dieser schließlich die folgende einfache Zusammensetzung gab:

Ammoniumsulfat	1 g
Kaliumphosphat	1 g
Leitungswasser	1000 g.

Außerdem setzte man jedem Kolben mit 100 ccm je 0,5—1 g basisch kohlensaurer Magnesia zu.

Nach Impfung mit ein wenig Erde und erfolgter Nitrifikation wurde immer wieder übergeimpft und so ein stetiger Gang der Versuche bald erzielt: die Diphenylamin-Reaktion erschien schon am 4. Tage und erreichte nach weiteren 3—4 Tagen ihre Höchststärke; nach zwei Wochen war das Ammoniak verschwunden. Der erste Teil der Aufgabe schien gelöst.

Als zur mikroskopischen Analyse geschritten wurde, wobei man die Aufmerksamkeit hauptsächlich auf die Oberfläche der Lösungen richtete, an welcher ein zarter Anflug bemerkbar war, fand man anfangs die nitrifizierten Lösungen ganz erstaunlich arm an Organismen. Das Gelatineplatten-Verfahren ließ dann fünf Arten von bakteriellen bzw. sproßpilzartigen Organismen gewinnen, von denen jedoch keiner Nitrifizierungsvermögen zeigte. Weiteres ließ sich mittelst des Plattenverfahrens nicht auffinden, wodurch die Vermutung bestätigt wurde, daß der spezifische Organismus unfähig ist, in der Gelatine zu wachsen. Dieser Organismus ließ sich durch fortgesetzte mikroskopische Untersuchungen in dem Magnesia-Bodensatz der Zuchten endlich aufdecken, in welchem er, besonders nach Oxydation von mehreren Gaben von Ammoniumsulfat, reichlich vorhanden war und mit seinen Zooglöen die Magnesiateilchen bedeckte. Es war ein Mikrobe von regelmäßig ovaler oder ellipsoidischer Form, den man periodenweise auch in der Flüssigkeit schwärmen sah. Nun galt es, entweder die fremden Organismen zu eliminieren, oder den spezifischen herauszuzüchten. Das erste gelang nicht, bzw. nur unvollkommen, selbst wenn man zur Bereitung der Lösung destilliertes Wasser und reinste Salze gebrauchte. Was nun die Reinzüchtung betrifft, so gelang sie das erste Mal dadurch, daß man das ablehnende Verhalten des Nitrifikationserregers gegen Nährgelatine benutzte: man bestrich die Gelatine mit etwas Magnesia, bzw. Kalk-Bodensatz, welcher den in Rede stehenden Organismus reichlich enthielt, um dann nach einigen Tagen die Magnesiateilchen resp. Kalkkristalle von den steril gebliebenen Stellen zu sammeln und damit Kölbchen mit Ammoniaklösung zu beimpfen. Einige davon nitrifizierten und ließen gleichzeitig Bouillon und Nährgelatine steril: sie enthielten den ovalen Mikroben, welcher als Nitrifikationserreger erkannt wurde, das erste Mal in Reinzucht.

Fast gleichzeitig mit meiner ersten Abhandlung über Nitrifikation (1), welche die obigen Beobachtungen beschrieb, erschien eine kurze vorläufige Mitteilung von P. und G. Frankland (2), worin sie verkünden, aus nitrifizierenden Lösungen mit Hilfe der Verdünnungsmethode einen Bacillococcus isoliert zu haben, der nitrifiziert, aber auf Gelatine nicht wächst. Die Beschreibung, die sie von diesem Bacillococcus geben, läßt erkennen, daß sie wahrscheinlich den gleichen Nitrifikationserreger in den Händen gehabt haben wie ich. Doch lassen weitere Angaben, nämlich über dessen Wachstum in Bouillon und, nach Entwicklung in dieser letzteren, in Nährgelatine, schon vermuten, daß es diesen Autoren nicht gelungen war, den betreffenden Organismus einwandfrei zu isolieren und dessen Eigenschaften richtig zu erkennen. Die später erschienene ausführlichere Abhandlung (3) ließ keinen Zweifel mehr darüber bestehen.

Als es zuerst gelang, einen Nitrifikationserreger zu isolieren, wurde er eine Zeitlang als der einzige angesehen, und man schrieb ihm das Vermögen zu, Ammoniaksalze zu Salpetersäure zu oxydieren. Der Be-

obachtung, daß bei Kultur in ammoniakalischen Lösungen vorzugsweise, in Reinkulturen sogar ausschließlich, Nitrite sich bilden, wurde zunächst keine prinzipielle Bedeutung zugeschrieben; erst später, als die Frage über Nitrit- bzw. Nitratbildung im speziellen in Angriff genommen wurde, stellte es sich heraus, daß die Nitratbildung ein besonderer Prozeß ist, welcher von einem zweiten Erreger besorgt wird. Erst Mitte 1891 wurde auch dieser Organismus reingezüchtet.

In der nun folgenden systematischen Darstellung der Nitrifikationslehre werden wir uns an meine Arbeiten halten, wie auch an diejenigen von Omeliansky, welche in meinem Laboratorium ausgeführt worden sind. Arbeiten anderer Forscher, welche unsere Resultate geprüft und weiter entwickelt haben, werden an den betreffenden Stellen berücksichtigt und jedesmal citiert werden.

§ 36. Die Einrichtung der Nitrifikationsversuche in ammoniakalischen Lösungen.

Wir beginnen mit der Schilderung der Nitrifikationsvorgänge in mineralischen ammoniakhaltigen Lösungen, wobei uns zuerst nur die chemische Seite des Prozesses interessieren wird, ohne Rücksicht auf die die Lösungen bewohnenden Mikroorganismen. Mag auch die Zucht eine unreine sein, d. h. verschiedenartige fremde Keime enthalten, so wird das doch den Gang der Oxydation in keiner Weise beeinflussen, solange man jeden Zusatz organischer Substanzen vermeidet. Es verraten dann diese fremden Keime ihre Anwesenheit durch keine Wirkungen, so daß der Gang des Prozesses in diesen unreinen, fast unmittelbar aus dem Boden stammenden Zuchten sich, vom chemisch-analytischen Standpunkte aus beurteilt, durch nichts von demjenigen in solchen Zuchten unterscheidet, in welchen die beiden Nitrifikationserreger in Reinzucht enthalten sind.

Für die Anstellung dieser Versuche muß man selbstverständlich solche Gefäße wählen, welche die Lüftung der Flüssigkeiten möglichst begünstigen. Die meisten meiner eigenen Versuche habe ich in konischen Kolben mit flachem Boden von etwa 12 cm Durchmesser gemacht, wobei die Höhe der Flüssigkeitsschicht zwischen einem cm und wenigen mm sich hielt. Zwecks einer ergiebigeren Lüftung empfiehlt es sich auch, diese flachbödigen, halbkugeligen, seitlich über dem Boden eingeschmolzene Röhren tragenden Kolben, welche man jetzt im Handel findet, zu gebrauchen. Um in dieser Richtung noch weiter zu gehen, haben neuerdings Boullanger und Massol (1) den Gebrauch von Schlacken empfohlen, welche den Prozeß sehr begünstigen sollen, wenn man die Flüssigkeit nur bis zur halben Höhe der Schlackenschicht nachfüllt, und dann von Zeit zu Zeit immer wieder durch Schütteln der Gefäße die Schlacken mit frischer Flüssigkeit benetzt. Noch besser sollen die sog. „rotativen Nitrifikatoren" derselben Autoren arbeiten. Das sind zwei Liter fassende tonnenförmige Glasgefäße, die man mit Schlacken ganz füllt, worauf man dann ungefähr ein Drittel des Raumes mit der nitrifizierbaren Lösung beschickt; läßt man mit Hilfe einer in der Achsenrichtung angebrachten Röhre langsam Luft durchsaugen, wobei man alle 3—6 Stunden die Tönnchen umrollt, so wird der Prozeß sehr beschleunigt, was die erwähnten Forscher auch zahlenmäßig beweisen. Schließlich haben dieselben Forscher noch einen Apparat, welcher eine

noch vollkommnere Lüftung erlaubt, gebraucht. Dieser besteht aus einer ca. 2,5 m langen, 6 cm weiten, mit Schlacken gefüllten Glasröhre, welche am oberen Ende eine reichlich beimpfte Nährlösung tropfenweise erhält; nach dem Herausfließen wird diese mit Hilfe einer kleinen Pumpe wieder in das obere Reservoir hinaufgebracht. Wenn es nicht auf Handlichkeit 5 der Zuchtapparate ankommt, können ohne Zweifel noch mehrere andere Einrichtungen zu Nitrifikationszwecken konstruiert werden. Was hier unser Interesse beansprucht, ist die Tatsache, daß der Nitrifikationsprozeß auf eine gesteigerte Lüftung mit einer gesteigerten Energie zu reagieren scheint. 10

Was nun die Zusammensetzung der zu nitrifizierenden Lösungen betrifft, so ist eine Nitrifikation schon in einer sehr verdünnten Lösung von Ammoniumkarbonat in Brunnenwasser denkbar; doch kann sie keine vollständige sein, sondern es wird die Hälfte des Ammoniaks als Ammoniumnitrit resp. -nitrat unverändert bleiben. 15 Daraus erhellt die Notwendigkeit einer zweiten basischen Substanz, welche die gebildeten Stickstoffsäuren zu binden hat. Als solche ist ein kohlensaures Salz, vorzugsweise ein Alkali- oder Erdalkalikarbonat zu benutzen. Fragen wir jetzt nach den nitrifizierbaren Ammoniumverbindungen, so sind zunächst zwei Fälle streng auseinanderzuhalten: ob 20 die betreffenden Verbindungen in Gegenwart oder in Abwesenheit von kohlensauren Basen der Nitrifikation unterworfen werden. Im letzteren Falle ist weder das reine Ammoniak, noch sein Sulfat, Chlorid und Phosphat für die Nitrifikation tauglich; nur Ammoniumkarbonat erweist sich in diesem Falle als nitrifizierbar. Setzen wir da- 25 gegen Soda, oder Magnesium- oder Calciumkarbonat zu, so unterliegen die genannten Salze leicht der Oxydation. Daß es sich dabei ausschließlich um die Neutralisation der sich bildenden Stickstoffsäuren handelt, scheint schon darum unwahrscheinlich, weil die Natur der zugesetzten Basen für den Prozeß nicht gleichgültig ist. So geht er entschieden 30 leichter mit basisch kohlensaurer Magnesia als mit Kreide; ersetzt man diese aber durch Marmor in kleinen Stücken, so wird der Prozeß unter sonst gleichen Bedingungen ein ganz außerordentlich langwieriger und ist manchmal nur mit Hilfe einer periodischen Sättigung der Nährlösung mit Kohlensäure zu erzielen. Da in Gegenwart einer kohlensauren Base 35 ein Teil des vorhandenen neutralen Ammonsalzes in Ammoniumkarbonat übergeführt wird, wobei das Mengenverhältnis von der Natur der angewandten Base abhängen muß, so kann man schließen, daß der dem Prozesse günstige resp. ungünstige Einfluß der Base eben durch den Charakter der dabei stattfindenden doppelten Umsetzung bedingt wird. 40 Will man sich überzeugen, daß diese Umsetzung mit verschiedenen Basen verschieden ausfällt, so setze man gleiche Mengen von Magnesiumkarbonat, von Kreide und von Marmor in kleinen Stücken zu drei gleichen Mengen einer 0,1- oder 0,2-proz. Ammoniumsulfatlösung, lasse die Gemische längere Zeit bei Zimmertemperatur oder kurze Zeit unter Er- 45 wärmen stehen, filtriere klar und bestimme dann titrimetrisch die Alkalinität der Filtrate. Es wird sich dann zeigen, daß das Magnesiafiltrat einen bedeutenden Alkalinitätsgrad besitzt, das Kreidefiltrat einen viel schwächeren und das Marmorfiltrat einen kaum merklichen oder gar keinen; woraus zu schließen ist, daß im ersten Falle ein bedeutender 50 Teil des Ammoniumsulfates in Karbonat übergeht, im zweiten weniger, im dritten nur Spuren. Wir sehen, daß diese Stoffe vom Standpunkte ihrer Tauglichkeit für die Nitrifikation aber in derselben Ordnung

stehen, und das läßt uns vermuten, daß das Ammoniumkarbonat das einzige *direkt* nitrifizierbare Ammonsalz ist. Doch sind weitere Untersuchungen in dieser Richtung noch erforderlich.

Soviel ist nach dem bekannten chemischen Gesetze klar, daß, wenn ein neutrales Ammonsalz und eine kohlensaure Base, z. B. also $(NH_4)_2SO_4$ und $CaCO_3$, in doppelte Umsetzung eintreten, jedem gegebenen Verhältnis dieser zwei Salze ein gewisser Gleichgewichtszustand zwischen den vier Salzen, in unserem Falle $(NH_4)_2SO_4$, $CaCO_3$, $CaSO_4$, $(NH_4)_2CO_3$, entsprechen wird, und daß, sobald das Ammoniumkarbonat durch die Nitrifikation entfernt wird, alsbald neue, dem veränderten Mengenverhältnis der Salze entsprechende Mengen davon wieder entstehen müssen. Es ist dann weiter zu berücksichtigen, daß die Anhäufung von Nitriten und Nitraten ihrerseits auch das Gleichgewicht der Salze, mithin auch die Ammoniumkarbonatbildung in einer gewissen Richtung mit beeinflussen werden. Doch müssen wir uns begnügen, auf diese komplizierten Verhältnisse nur kurz hinzuweisen und daraus nur folgende, die Zusammensetzung der Nährlösung betreffende Schlüsse zu ziehen: 1. Die Menge des zugesetzten neutralen Ammonsalzes ist durchaus nicht gleichgültig, da ein zu hoher Zusatz die Alkalinität der Lösung, beim Ueberschuß an unlöslicher kohlensaurer Base, über den günstigen Grad hinaus bringen kann, und 2. ist bei Anwendung eines neutralen Ammonsalzes für einen Ueberschuß an kohlensaurer Base zu sorgen, widrigenfalls der Prozeß stille stehen wird, sobald jene fertig zerlegt ist; was man auch tatsächlich beobachtet.

Die Erfahrung hat gezeigt, daß es am vorteilhaftesten ist *als Ammonsalz das Ammoniumsulfat* zu gebrauchen, wobei man die Konzentration nicht über 2—2,5 pro Mille hinaus steigern darf. Als *kohlensaure Base* nimmt man am besten *basisch kohlensaure Magnesia* im Verhältnis von ca. 1 g auf je 0,1 g des Ammonsalzes. Mit Kreide geht die Nitrifikation, besonders zu Anfang, langsamer; wenn aber einmal gut im Gange, kann sie ungefähr dieselben Werte wie mit Magnesia erreichen. Will man eine lösliche Base gebrauchen, so leistet Soda ebenso gute Dienste wie Magnesia, wenn man die Konzentration von 5—6 pro Mille nicht überschreitet; nur ist der Gebrauch einer löslichen Base aus leicht zu ersehenden Gründen weniger praktisch.

Die von mir zu verschiedenen Zeiten zu *Nitrifikationsversuchen am meisten gebrauchten Lösungen* hatten folgende Zusammensetzung:

1.		2.		3.	
Ammoniumsulfat	1 g	Ammoniumsulfat	2—2,5 g	Ammoniumsulfat	2 g
Kaliumphosphat	1 g	Kaliumphosphat	1 g	Kaliumphosphat	1 g
Brunnenwasser	1 l	Magnesiumsulfat	0,5 g	Magnesiumsulfat	0,5 g
Bas.-kohlens. Magnesia im Ueberschuß.		Chlorcalcium	Spuren	Chlornatrium	2 g
		Destilliertes Wasser	1 l	Eisenoxydul	0,4 g
		Bas.-kohlens. Magnesia im Ueberschuß.		Destilliertes Wasser	1 l
				Bas.-kohlens. Magnesia im Ueberschuß.	

Um Verluste an Ammoniak beim Sterilisieren zu vermeiden, bereitet man die Lösungen am besten ohne Ammoniumsulfat, setzt die Magnesia zu und sterilisiert. Das Ammonsalz sterilisiert man gesondert in einer 5- oder 10-proz. Lösung und fügt sie jener dann nach dem Erkalten der Lösungen mit einer sterilisierten Pipette zu.

Das klassische Mittel die Nitrifikation in Gang zu setzen besteht darin, etwas Erde in die Lösung einzubringen. Führt man etwa 1 g Erde in eine nach den obigen Vorschriften bereitete Lösung ein, so sieht man die ersten Anzeichen von Nitrifikation manchmal schon nach 4—5 Tagen eintreten, manchmal aber erst nach Wochen; keine besondere Seltenheit sind auch Fälle, in denen der Prozeß überhaupt ausbleiben kann. Diese Ungleichheiten hängen offenbar mit dem Gehalte der verschiedenen Erden an lebensfähigen Nitrifikationserregern zusammen, welcher sehr verschieden sein kann. Daß getrocknete, gepulverte Erdproben keine Nitrifikation geben, habe ich mich mehrmals überzeugen können: die spezifischen Erreger sind nämlich gegen das Austrocknen wenig widerstandsfähig. Es ist auch unschwer, sich zu überzeugen, daß hochkultivierte und periodisch gedüngte Böden ein besseres Impfmaterial abgeben als unkultivierte. Genaueres über den relativen Reichtum der verschiedenen Böden an Nitrifikationsorganismen weiß man derzeit noch nicht viel zu sagen. Nach Migula (1) sollen sie in den oberen Schichten des Waldbodens manchmal gänzlich fehlen. Ueber die Verteilung dieser Organismen im Boden der Tiefe nach ist aus den Versuchen von Warington (1) zu schließen, daß sie, und zwar in einem Lehmboden, in der oberen, etwa 6 Zoll dicken Bodenschicht reichlich vorhanden sind, weiter hinab werden sie spärlicher, und in einer Tiefe von zwei Fuß verschwinden sie gänzlich. Am sichersten ist es also, die Erde als Impfmaterial aus einer Tiefe von etwa 10 cm zu entnehmen, um einerseits die Folgen der Austrocknung und andererseits eine Verdünnung der spezifischen Keime zu vermeiden.

§ 37. Die chemische Kontrolle der Nitrifikationsprozesse in ammoniakalischen Lösungen.

Zur chemischen Kontrolle der Nitrifikationsprozesse hat man eine Auswahl sehr empfindlicher Reagentien. Das empfindlichste unter den Nitritreagentien, nämlich Sulfanylsäure mit Naphtylamin, ist eben wegen seiner zu großen Empfindlichkeit nicht zu empfehlen. Das Metaphenylendiamin ist wegen begrenzter Haltbarkeit unpraktisch. Als beste Reagentien für Nitrifikationsversuche empfehlen wir: das Trommsdorff'sche Reagens (Zinkjodidstärkelösung) für Nitritproben, Diphenylamin-Schwefelsäure für Nitrit und Nitrat und das Nessler'sche Reagens für Ammoniak. Um die vielen Proben möglichst rasch und ohne Umstände zu machen, wendet man sie am besten als Tüpfelreaktionen an, wobei man einen Tropfen der Kulturflüssigkeit mit einer rechtwinkelig gebogenen, größeren Platinöse entnimmt und damit die Oberfläche des betreffenden, in einem Schälchen befindlichen Reagens vorsichtig berührt. Sehr praktisch im Gebrauche für diese Proben sind die bekannten Porzellanplatten mit vielen (bis zwanzig) schalenartigen Vertiefungen, die man im Handel findet und die bei der Aquarellmalerei gebraucht werden. Ueber die Bereitung der Reagentien vgl. Tiemann-Gärtner's Handbuch der Untersuchung und Beurteilung der Wässer. Braunschweig 1895.

Die Prüfung mittelst dieser Reagentien ist am dritten oder vierten Tage nach der Einsaat zu beginnen, und zwar mit dem von Trommsdorff: man gießt in die Vertiefungen der Porzellanplatte je 1—1½ ccm des Reagens mit je ein Paar Tropfen verdünnter Schwefelsäure hinein

und führt nun mit Hilfe der Platinöse die Tüpfelproben aus; sieht man einen blauen Schleier von der Berührungsstelle sich ausbreiten, so hat der Prozeß schon eingesetzt, und zwar, wie immer in diesen Versuchen, mit Nitritbildung. Wenn man weiterhin die Proben mit Trommsdorff's Reagens wiederholt, so sieht man die Intensität der Reaktion rasch anwachsen, bis sie ihr Maximum erreicht hat: es entsteht dann an der Berührungsstelle ein gesättigt-dunkelblauer Fleck, der über die ganze Oberfläche sich ausbreitet. Weitere Proben mit Trommsdorff sind dann einzustellen, und nun das Nessler'sche Reagens in derselben Weise anzuwenden, das zu dieser Zeit noch einen deutlichen gelben Fleck gibt. Bei den nächsten Proben sieht man diesen Fleck immer heller gefärbt, bis man endlich gar keinen mehr bemerkt. Die Lösung ist nun ammoniakfrei. Was das Schicksal der gebildeten Nitrite betrifft, so läßt das allmähliche Schwinden der Trommsdorff'schen Reaktion auf die Oxydation derselben zu Nitraten schließen, worüber man sich mit der Diphenylaminprobe überzeugen kann: man nimmt ein Diphenylaminkriställchen, löst es in 1—2 ccm konzentrierter Schwefelsäure und führt nun die Tüpfelprobe aus. Da Diphenylamin bekanntlich mit Nitriten sowie Nitraten dieselbe intensive Blaufärbung gibt, so wird dieses Reagens nur nach dem vollständigen Verschwinden der Trommsdorff-schen Reaktion Nitrate anzeigen. Will man die Nitrate bei gleichzeitiger Anwesenheit von Nitriten nachweisen, so können die Tüpfelproben nicht mehr dazu dienen. Man entnimmt dann einige ccm der Lösung, setzt nach Piccini Harnstoff im Ueberschuß zu oder schwefelsaures Eisenoxydul (Boullanger und Massol) und kocht auf, wobei die Nitrite zerstört werden; dann prüft man mit Diphenylamin, indem man die Lösung und das Reagens in einem Probierröhrchen vorsichtig übereinander schichtet. Doch genügen die oben angegebenen Tüpfelproben, um sich eine vollständige Vorstellung über den Gang des Nitrifikationsprozesses zu bilden.

Will man ihn genauer verfolgen, so bediene man sich der quantitativen Bestimmungen. Bezüglich dieser letzteren müssen wir auf chemisch-analytische Lehrbücher verweisen. Ich erwähne nur, daß ich zur Bestimmung der Nitrite mich der Titration mit einer Zehntel- und einer Hundertel-Normallösung von Kaliumhypermanganat bediente. Ich gebrauchte dieselbe in der Weise, daß ich zu 100 ccm destillierten angesäuerten Wassers einige ccm Permanganatlösung (der stärkeren oder der schwächeren, je nach der Konzentration der Nitritlösung) zusetzte und dann langsam mit der zu analysierenden Lösung bis zur Entfärbung titrierte; dann wieder tropfenweise die Permanganatlösung bis zur bleibenden Rosafärbung zufließen ließ. Auf diese Weise erhält man sehr scharfe Resultate. Zur Bestimmung der Gesamtmenge des oxydierten Stickstoffes wandte ich das Schloesing'sche Verfahren in der von Schulze-Tiemann angegebenen Abänderung an. Der Nitratstickstoff wurde aus der Differenz berechnet. Doch stimmen die mit diesen zwei so verschiedenen Methoden erhaltenen Zahlen nicht gut überein; was man daraus ersieht, daß man, wenn man eine nitratfreie Nitritlösung mit Hilfe der Titration und dann nach dem Schloesing-schen Verfahren analysiert, immer eine Differenz findet, die bis 2 Proz. erreichen kann. Ein einheitliches Verfahren, welches eine Bestimmung von Nitrit und Nitrat in demselben Quantum Flüssigkeit gestattete, war bis vor kurzem noch unbekannt. Darum muß man das Verfahren von Müntz, welches eine stufenweise Bestimmung von Nitrit und Nitrat mit

Hilfe von Eisenoxydulsulfat erlaubt, willkommen heißen. Eine Beschreibung dieses, unter des genannten Forschers eigenem Namen nicht veröffentlichten Verfahrens geben BOULLANGER und MASSOL (1) in ihren Studien über Nitrifikationsmikroben, wo darüber nachzuschlagen ist.

§ 38. Der Vorgang der Nitrifikation in gemischten Zuchten. 5

Hat man mit wenig Erde beimpft und kontrolliert nun täglich die Flüssigkeiten mit Hilfe der oben angeführten Verfahren, so beobachtet man unveränderlich folgende Erscheinungen: 1. Wenn einmal begonnen, geht die Oxydation von Ammoniak stetig weiter und führt zur vollständigen Umwandlung des Ammonstickstoffs in Nitritstickstoff. 2. Während der Nitritbildung enthält die Lösung bis zu Ende kein Nitrat. 3. Erst wenn die Nitritbildung aus Mangel an Ammoniak stille steht, beginnt die Nitritoxydation und führt dann, einmal begonnen, zu einer vollständigen Oxydation des Nitrits zu Nitrat.

Von diesem mit Erde beimpften Mutterkolben ausgehend, kann man nun weitere Zuchten anlegen, indem man am besten mit einer sterilisierten Pipette oder Platinöse eine Spur Bodensatz in den Tochterkolben überträgt. Die Nitrifikation läßt dann weniger lange auf sich warten, und nach ein paar weiteren Umsaaten gewinnen die Versuche einen ganz regelmäßigen Gang. Die ersten Anzeichen einer Nitritbildung erscheinen am 4.—5. Tage; nach weiteren 8—10 Tagen ist das Ammoniak verschwunden, was im Durchschnitt einer Oxydation von 10 mg Ammoniumsulfat, resp. 2 mg Ammonstickstoff pro Tag entspricht, wenn man von der Inkubationszeit absieht. Fährt man fort, immer wieder frische Zuchten anzulegen, so bleibt der Oxydationsertrag immer auf dieser Höhe. Es ist aber ein leichtes, ihn bedeutend zu heben, wenn man die Ueberimpfungen einstellt und nun nach dem Verschwinden von Ammon sofort wieder je 1 oder 2 ccm einer sterilisierten 10-proz. Lösung von Ammoniumsulfat in dieselben Zuchten einträgt. Nach fünf Tagen erreicht dann die Oxydation 40 mg Ammoniumsulfat pro Tag, nach weiteren fünf Tagen 50—60 mg und nach ungefähr drei Wochen in einer beständig durch frische Ammonzusätze unterhaltenen Oxydation bis 100—120 mg Ammoniumsulfat oder 22—23 mg Ammoniumstickstoff pro Tag. Um so hohe Oxydationswerte zu erreichen, muß man die älteren Zuchten in größere (etwa 25 cm im Diameter haltende) Kolben oder Schalen überführen und dafür sorgen, daß kein Mangel an Magnesia sich einstellt. Die übrigen Nährsalze aber genügen offenbar für die Oxydation von jedenfalls nicht weniger als des 10—20-fachen der anfänglich vorhandenen Menge des Ammonsalzes.

Fragen wir nun nach den Produkten der Oxydation in den Tochterzuchten, um da folgendes verzeichnen zu können: 1. Manche unter ihnen ahmen in dem Gange der Oxydation die Mutterzucht nach, d. h. das Ammoniak wird zuerst zu Nitrit oxydiert, worauf die Oxydation von Nitrit zu Nitrat beginnt und bis zu Ende geht. 2. Bei anderen wieder vollzieht sich in energischer Weise nur die erste Stufe des Prozesses, d. h. die Umwandlung von Ammoniak in Nitrit, welches dann unbegrenzte Zeit in der Lösung unverändert bleibt. 3. Unterhält man die Ammoniakoxydation in ein und derselben Menge Flüssigkeit in der Weise, daß man möglichst ohne Zwischenpausen immer frische Portionen Ammonsalz zusetzt, so kommt es gar nicht zur Bildung von Nitraten; bleiben aber die Zuchten zeitweise ohne Ammoniak, so werden je nach

der Länge der Zwischenpausen größere oder kleinere Nitratmengen gebildet.

Nimmt man zu den verschiedenen Versuchsreihen verschiedene Erdproben als Ausgangsmaterial, so verläuft der Vorgang zuerst überall in gleicher Weise, und zwar in dem Sinne, daß in allen Gefäßen Nitrit gebildet wird, welches schließlich in Nitrat übergeht. Doch liefern weitere Umsaaten insofern ein verschiedenes Ergebnis, als die Nitritoxydation bald sich länger hält, bald schnell erlischt. So habe ich (5) in einer Reihe von Versuchen, in denen ich von verschiedenen, in weit voneinander entfernten Gegenden entnommenen Bodenproben ausging, folgendes Ergebnis gehabt: in den Tochterzuchten von zwei europäischen, zwei asiatischen und einer australischen Bodenprobe erlosch die Nitritoxydation sofort nach der ersten Umsaat; in vier Versuchsreihen mit Impfmaterial afrikanischen Ursprunges dagegen und in zwei südamerikanischen blieb sie länger erhalten; doch verschwand sie schließlich in allen, mit Ausnahme der mit Erde aus Quito angelegten, wo sie noch in der siebenten Generation erhalten blieb.

Die Deutung dieser merkwürdigen, zum Teil geradezu launischen Erscheinungen, hat den Forschern, welche sich mit der Nitrifikation beschäftigt haben, viel Arbeit gekostet. Erst die vollständige Erforschung der Mikrobiologie des Nitrifikationsprozesses brachte Licht in diese verwickelten Verhältnisse. Wie bereits in §§ 33 und 34 erwähnt worden ist, wurde dem Umstande, daß in den nitrifizierenden Flüssigkeiten immer so viel Nitrit sich bildet, von den meisten Forschern zuerst keine prinzipielle Bedeutung zugeschrieben; man faßte die Nitritbildung als eine unvollständige Oxydation auf und erklärte sie durch mangelnden Luftzutritt und sonstige ungünstige Bedingungen. Warington (1) als erster hat die Nitritbildung dem „Charakter" des Nitrifikationserregers zugeschrieben; doch war diese Deutung nicht gut mit der Vorstellung in Einklang zu bringen, daß es nur eine einzige Art von Erreger gäbe, der manchmal energisch genug ist, um die Oxydation von Ammoniakstickstoff sofort bis zu Nitratstickstoff zu vollbringen, manchmal aber aus Schwäche die Oxydation nicht so weit zu führen vermag. Obgleich diese Hypothese weit entfernt war, den Tatsachen zu genügen, so schien doch die Idee, daß die Nitritbildung und die Nitratbildung zwei getrennte Prozesse sind, welche durch verschiedene Agentien verursacht sind, sozusagen als eine Uebertreibung der biologischen Theorien, und man wagte nicht diese Deutung anzunehmen, bevor nicht alle anderen Erklärungsmöglichkeiten erschöpft wären. So trat Müntz (1) mit der Theorie hervor, wonach nur die Nitritbildung ein biologischer Vorgang sei, daß hingegen die weitere Oxydation der Nitrite, namentlich im Boden, ein rein chemischer Vorgang sei und in der Einwirkung der Kohlensäure auf Nitrite, d. h. also in der Verdrängung der salpetrigen Säure aus ihren Salzen mit darauffolgender spontaner Oxydation, ihre Erklärung finde. Diese Theorie trug jedoch der fast täglichen Erfahrung bei Nitrifikationsversuchen keine Rechnung, daß die Nitritoxydation auch in wässeriger Lösung manchmal ganz energisch vor sich gehen kann, während sie unter ganz gleichen chemischen Bedingungen in anderen Fällen vollständig ausbleibt. Andererseits überzeugte ich mich (5), daß auch im Boden der reine Nitritprozeß sich in Gang bringen läßt und daß Nitrite darin ebenso beständig sind, selbst in Gegenwart von gewöhnlichen Bodenbazillen, wie in einer wässerigen Lösung (vgl. weiter unten). Schließlich zeigten besondere Versuche, daß eine tägliche, mehrere

Stunden andauernde Sättigung einer Nitritlösung mit Kohlensäure, zumal in Gegenwart von Magnesia oder Calciumkarbonat, zu keiner merklichen Nitritoxydation führte.

Ebenso wenig wie die MÜNTZ'sche Theorie konnte die Hypothese von der Abschwächung standhalten, denn es zeigte sich (5), daß die Eigenschaft der Zuchten, Nitrite zu oxydieren, von den Versuchsbedingungen ganz unabhängig ist. Wenn einmal verschwunden, ließ sie sich durch keine Mittel wiederbringen. Weder erhöhte, maximale Sauerstoffzufuhr noch irgendwelche Abänderung der Zuchtflüssigkeit konnten da etwas ändern. Trotz energischster Ammoniakoxydation blieb nach erfolgter Nitritbildung der Titer der Lösung, auf Kaliumpermanganat eingestellt, monatelang unverändert.

Nach diesen Versuchen erschien der Schluß, daß die Nitritbildungsperiode oder **Nitritation** und die Nitratbildungsperiode oder **Nitratation zwei unabhängige Prozesse sind**, als vollkommen zwingend, und es war so die Aufgabe gestellt, **diese Prozesse voneinander zu trennen** und gesondert zu studieren. Die Trennung erwies sich als eine ganz einfache Arbeit. Nachdem man sich überzeugt hatte, daß die Nitratation immer energischer vor sich geht, wenn man in einer bereits nitratierten Zucht die Ammongaben einstellt und statt dieser immer **frische Mengen von Nitrit** zugibt, wandte man für das Studium dieses Prozesses die **Züchtung in Nitritlösung**, unter Ausschluß von Ammoniak, an. Dieses ersetzte man durch 1 pro Mille Natriumnitrit. Beimpfte man diese Lösung mit Erde, so wurde schon nach einigen Tagen eine Nitritoxydation bemerkbar, und nach etwa zwei Wochen war das Nitrit verschwunden. Machte man davon Ueberimpfungen in eine frische Lösung gleicher Zusammensetzung, so war meistens schon in der zweiten Generation die **Fähigkeit Ammoniak zu oxydieren verloren**; denn beimpfte man davon reichlich die gewöhnliche Ammonlösung, so blieb regelmäßig jede Nitrifikation aus. Es war auf diese einfache Weise eine vollkommene Trennung der beiden Stufen des natürlichen Nitrifikationsprozesses erzielt worden.

Von dem Standpunkte der **Selbständigkeit dieser beiden Prozesse** sind nun alle die obigen an „unreinen" Nitrifikationsversuchen gemachten Beobachtungen leicht zu erklären. Denn wenn es zweierlei Erreger gibt, den Nitrit- und den Nitratbildner, so **wird der Erfolg der Ueberimpfung offenbar von dem Zeitpunkte abhängen, in welchem man überimpft**: tut man dies während der Nitritation oder nachdem diese soeben abgelaufen ist, so hat man Aussicht, nur den Nitritbildner überzuimpfen, weil der Nitratbildner noch nicht zur Entwicklung gelangt war; tut man es dagegen erst nach erfolgter Nitratation, so überträgt man beide, und es wird dann auch die Tochterzucht beide Prozesse aufweisen, während es im ersten Falle nur bis zur Nitritbildung kommt. Da man vor der Erkenntnis des wahren Sachverhaltes auf den Zustand der Zuchten im Augenblicke der Ueberimpfung keine besondere Rücksicht nahm, und weil der Nitratbildner sich bedeutend später vermehrt und seine spärlichen Keime zur Zeit der vollständigen Ammoniakoxydation noch im ruhenden Zustande sich befinden, so führten die Ueberimpfungen fast regelmäßig zur Elimination des Nitratbildners, wonach die Versuche einen rein nitrosen Charakter annahmen; was den Schein einer Abschwächung als Folge des Züchtens in flüssigen Nährmitteln erweckte. Es ist auch weiter klar, daß je größer die relative Wachstumsenergie des Nitratbildners im Vergleiche mit dem Nitrit-

bildner ist, desto hartnäckiger der erstere sich in den Zuchten erhalten wird. Darin liegt vielleicht die Erklärung, warum in den Zuchtreihen verschiedenen Ursprunges ein verschieden spätes Erlöschen der Nitratation zu beobachten war.

Eine wichtige Frage bleibt noch zu beantworten. Wir haben gesehen, daß zwischen den beiden Prozessen ein gewisser Antagonismus besteht, wobei die Nitratation die schwächere Seite ist. In der Tat, diese beginnt erst dann, wenn die Nitritation vollständig abgelaufen ist; setzt man wieder Ammoniak zu, so geht die Anhäufung der Nitrite immer weiter, während deren Oxydation nicht einmal beginnen kann. Es hatte also den Anschein, als ob die Entwicklung des Nitritbildners schuld sei, daß der Nitraterreger nicht aufkommen kann. Doch sprach Warington (3), welcher unabhängig von dem Schreiber dieser Zeilen die Frage von der Nitritbildung sorgfältig studierte und zu wesentlich denselben Ergebnissen gelangte, die Meinung aus, daß die hemmende Wirkung auf den Nitraterreger den Ammonsalzen zuzuschreiben ist, was nach Versuchen in Reinzuchten sich als richtig erwies.

Alle in den drei letzten Paragraphen dargestellten Tatsachen können an der Hand von Versuchen, welche auf die Reinheit der Zuchten keinen Anspruch erheben, ohne Schwierigkeiten beobachtet werden. Soweit sind die lehrreichen Nitrifikationsversuche in Lösungen auch denen zugänglich, welche gar nicht der bakteriologischen Methoden mächtig sind, und das war einer der Gründe, die uns bewogen haben, diese Beobachtungen etwas ausführlicher zu besprechen. Weitere Erfahrungen sind an der Hand von Reinzuchten gewonnen worden, zu welchen wir jetzt übergehen müssen.

§ 39. Morphologie des Nitritbildners. Die westeuropäische Art.

Indem wir zur Schilderung der Morphologie des Nitritbildners schreiten, müssen wir vor allem betonen, daß wir unter dieser Bezeichnung es nicht mit einer einzigen Art zu tun haben, wie man das früher sozusagen als selbstverständlich angenommen hatte, sondern mit einer Gruppe zwar nahe verwandter, aber doch morphologisch unterscheidbarer Wesen, die einzeln charakterisiert werden müssen. Leider sind darunter nur wenige einigermaßen gründlich untersucht. Gut bekannt ist eine Art, die ich (1) zuerst aus einer Schweizer Bodenprobe (Zürich) isolierte und dann auch aus einer französischen (Gennevilliers bei Paris) wieder abgeschieden habe. Wahrscheinlich ist das eine im Westen Europas weitverbreitete Spezies. Wir werden mit diesem westeuropäischen Organismus beginnen und zuerst seine Züchtung in wässerigen Lösungen, dann auf festen Substraten, im Zusammenhange mit seiner Isolierung, beschreiben. Zur Zeit seiner Entdeckung haben wir (2) ihn mit dem Namen *Nitromonas* belegt, den wir (8) später in *Nitrosomonas* abgeändert haben.

Impft man junge, energisch arbeitende Zellen in die Flüssigkeit, deren Zusammensetzung oben angegeben ist, so merkt man schon nach 2—3 Tagen eine deutliche Nitritreaktion, die nach weiteren 5—6 Tagen ihre Höchststärke erreicht. Untersucht man jetzt die Zucht mit Hilfe des Mikroskopes, indem man aus ihr ein Tröpfchen entnimmt, es antrocknet und färbt, so findet man überhaupt äußerst wenig Organismen. In der klaren überstehenden Flüssigkeitsschicht sind keine zu finden.



Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Nitritbildner aus Zürich.
Deckglaspräparat aus dem Bodensatze einer Kultur in mineralischer Lösung. Färbung mit Anilinwasser-Fuchsin. Vergr. 1000.

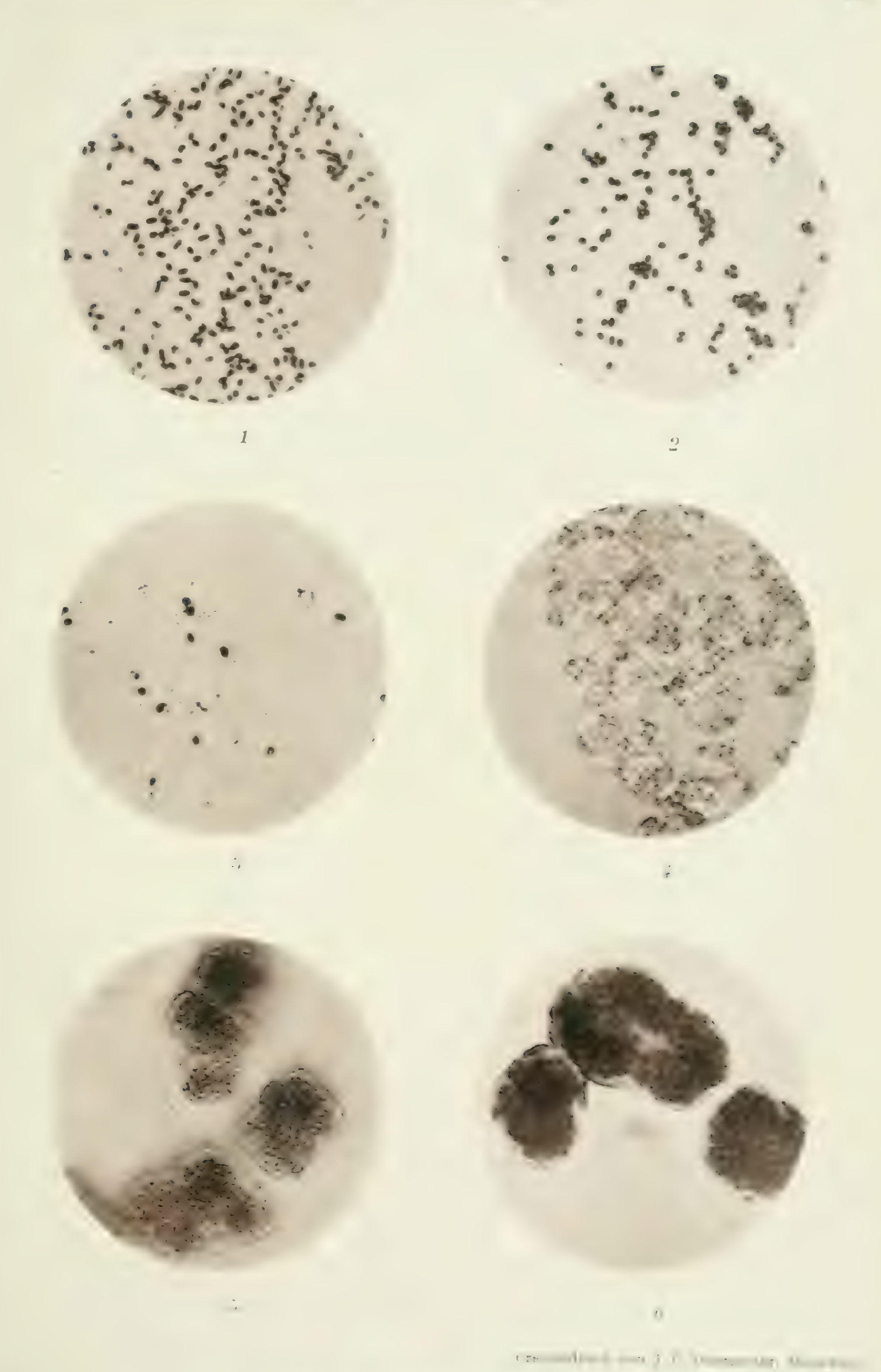
Fig. 2. Nitritbildner aus Gennevilliers bei Paris.
Deckglaspräparat aus einer Kolonie auf Kieselsäuregallerte. LOEFFLER'sche Färbung. Vergr. 1000.

Fig. 3. Nitritbildner aus Zürich.
Schwärmer. Deckglaspräparat aus der mineralischen Nährlösung. LOEFFLER'sche Geißelfärbung. Vergr. 1000.

Fig. 4. Nitritbildner aus Zürich.
Zooglöen-Wuchsform. Ungefärbt. Aus dem Bodensatze in der gewöhnlichen Nährlösung. Photographiert in einer schwachen Jodlösung. Vergr. 1000.

Fig. 5. Nitritbildner aus Zürich.
Große Zooglöen aus dem Bodensatze einer flüssigen Kultur. Ungefärbt. Photographiert in schwacher Jodlösung. Vergr. 1000.

Fig. 6. Nitritbildner aus Zürich.
Große Zooglöen mit doppelten Hüllen. Deckglaspräparat. Färbung mit schwacher Fuchsin- und Gentiana-Lösung. Vergr. 1000.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.



und auch im Bodensatze trifft man nur mit einiger Mühe auf seltene, kompakte, verschieden große (10—50 μ) Zooglöen, die man, wenn sie überfärbt sind, als solche schwerlich erkennt; erst bei vorsichtiger Färbung kann man die dicht zusammengedrängten Zellchen deutlich unterscheiden. Am besten erkennt man die Struktur dieser Gebilde, wenn man sie in einem Tropfen Jodjodkaliumlösung untersucht. (Vgl. *Fig. 4* auf *Taf. III.*)

Wenn man die Zuchtgefäße so wenig als möglich erschüttert, sieht man etwa am 7.—10. Tage die über dem Bodensatz stehende Flüssigkeit leicht trübe, oder eher opalisierend werden. Damit diese (manchmal sehr leichte) Opaleszenz der Beobachtung nicht entgehe, tut man gut, die Kölbchen in einiger Entfernung vom Fenster gegen das Licht zu halten, wobei man noch am besten ein steriles Kölbchen zum Vergleiche daneben hält. Doch ist diese Trübung manchmal ganz deutlich und nahe an der Oberfläche in Wolken oder schichtenweise noch mehr ausgebildet. Untersucht man nun die Flüssigkeit im hängenden Tropfen, so wimmelt sie von schwärmenden Mikroben von ellipsoidischer Form, die sich unter leichtem Zittern der beiden Körperenden energisch bewegen. (*Fig. 3* auf *Taf. III.*) Auf die Frage über den Ursprung dieser Schwärmer gibt eine erneuerte Untersuchung des Bodensatzes Aufschluß. Die festen Kolonien sind fast verschwunden: an einzelnen sieht man noch einen dichten Kern, während an dem Umfang der Kolonie die Zellchen schon ganz lose liegen. An anderen hat die Zerstreuung der Kolonie von einer Seite her begonnen, sonst bewahrt sie noch ihr festes Gefüge: kurz, man findet alle Uebergänge zwischen den ursprünglichen Zooglöen und den freien Zellen, woraus unzweifelhaft zu schließen ist, daß die Kolonien sich in Schwärmer aufgelöst haben. Uebrigens kann man diesen Auflösungs- und Ausschwärmungsprozeß auch direkt im hängenden Tropfen beobachten. Dazu ist noch zu bemerken, daß zur Zeit des Schwärmens die Lösung noch eine deutliche, jedoch eher schwache Ammoniakreaktion zeigt. Sobald diese verschwunden ist, vergeht die Trübung nach etwa 24—48 Stunden, und die unbeweglich gewordenen Zellchen sammeln sich in dem Bodensatze. Ist die Zucht eine reiche, so gewinnt der Bodensatz dann ein eigenartiges Aussehen, so, als ob die Magnesiateilchen durch eine schleimige Substanz zusammengehalten würden. Bewegt man vorsichtig das Gefäß, so widersteht der Bodensatz dem Aufwirbeln eine Zeitlang, worauf er sich schließlich in grauliche Flöckchen auflöst. Ein mikroskopisches Präparat zeigt jetzt, daß die Zellchen gleichmäßig, einzeln oder in kleinen Gruppen, im Bodensatze verteilt sind. (*Fig. 1* und *2* auf *Taf. III.*)

Was die Form der Zellchen betrifft, so sind sie immer länglich, ähnlich einer Null, nie kokkenförmig: der kürzere Durchmesser beträgt 0,9—1 μ, der längere 1,2—1,8 μ. Sie sind mit allen gewöhnlichen basischen Anilinfarben färbbar. Die Schwärmer tragen je eine mäßig lange Geißel an dem einen Körperende. Die Geißel sichtbar zu machen, gelang zum erstenmal nach der LOEFFLER'schen Methode, indem man zu Ferrotannat 10—15 Tropfen 1-proz. Sodalösung zusetzte. (*Fig. 3* auf *Taf. III.*) Doch gelingt die Geißelfärbung noch besser nach der ZETTNOW'schen Methode.

So verläuft die Entwicklung in den Zuchten, die ich (8) als typisch betrachte. Doch sind Abweichungen nach jeder Seite hin nicht selten. Es kommt nämlich vor, daß die Ausbildung in „freien beweglichen Zellen" (*Monas*) oder umgekehrt die Ausbildung als Zooglöa vorherrschend wird, selbst bis zu dem Grade, daß sie allein zu beobachten

ist. Es ist freilich möglich, daß auch in dem letzteren Falle beide Entwicklungsstufen durchgemacht werden, jedoch die eine von ihnen rascher durchlaufen wird und der Beobachtung entgeht. Nichtsdestoweniger sind die mikroskopischen Bilder in den zwei entgegengesetzten Fällen voneinander auffallend verschieden.

Es ist weiter bemerkenswert, daß die Neigung, reichlich Schwärmer zu bilden oder aber vorzugsweise in Zooglöa-Form zu wachsen, wenn sie sich einmal einstellt, in einer Reihe von Kulturen sich hartnäckig erhält, so daß es den Anschein hat, als ob man zwei Rassen vor sich habe, deren eine ausschließlich in Zooglöen, die andere hingegen in Gestalt freier Zellen wachse. Um diesen Unterschied schärfer zum Ausdruck kommen zu lassen, unterhalte man in Zuchten beider Art den Prozeß durch wiederholte parallele Ammongaben. Dann wird in den Zooglöa-Zuchten die Lösung immer klar bleiben, während in den Monas-Zuchten eine fortwährend sich erneuernde Trübung herrschen wird; umgekehrt wird man in dem Bodensatze der letzteren nur zerstreute oder in kleinen, losen Gruppen liegende Zellchen finden (vergl. *Fig. 1* und *2* auf *Taf. III*), während in den ersteren der Bodensatz ganz auffallende, schon mit einer schwachen Lupe oder gar mit bloßem Auge sichtbare dichte Zooglöa-Massen enthält; die mikroskopische Untersuchung in einem Tropfen Jodlösung läßt dann ein seltsames Bild beobachten (s. *Fig. 5* auf *Taf. III* und *Fig. 6* auf *Taf. IV*; wobei zu beachten ist, daß diese letzte Figur ein nur 125-fach vergrößertes Bild gibt). Zur Charakteristik dieser beiden Wachstumszustände des Mikroben muß man noch sagen, daß sie in gewissem Sinne auch in ihrer Wirksamkeit voneinander abweichen: die monadenbildenden Zuchten unterscheiden sich nämlich von den Zooglöa-Zuchten durch ihre größere Oxydationsenergie. Es ist auch verständlich, daß bewegliche Zellen, welche Sauerstoff und Ammoniak frei aufsuchen können, besser arbeiten werden als solche, welche, träge am Boden des Gefäßes liegend, beides nur durch Diffusion erhalten. Mehrere Male, wenn Zuchten bestimmten Ursprungs, welche sonst sehr energisch gearbeitet haben, eine trägere Wirkung aufwiesen, habe ich mich überzeugen können, daß die ursprüngliche reichliche Schwärmerbildung aufgehört und einem ausartenden Zooglöa-Wachstum Platz gemacht hatte, so daß es mir naheliegend schien, die Wirkungsenergie mit der Wachstumsform in ursächlichen Zusammenhang zu bringen. Doch fehlen noch genauere Versuche darüber.

Zu bemerken ist noch, daß die Zooglöen höchst wahrscheinlich auch in gewissem Sinne die Rolle von Dauerzuständen vertreten. Wenigstens sind sie gegen Austrocknung widerstandsfähiger als die freien Zellen, wie ich (8) mich durch besondere Versuche überzeugt habe; so halten die Zooglöen ein 24-stündiges Austrocknen an der Luft aus, durch welche Behandlung freie Zellen getötet würden. Doch ist die Widerstandsfähigkeit der Zooglöen gegen Austrocknung auch relativ begrenzt; denn trocknet man sie in großen Massen an größere Micablättchen, läßt diese 10 Tage in einem Exsiccator über Schwefelsäure verweilen und wirft sie dann in die ammoniakalische Nährlösung, so unterbleibt die Nitritation. Die Rolle von Dauerzuständen ist besonders einer eigenartigen Form von abgerundeten Zooglöen mit dickeren doppelten Hüllen, die man in älteren Zuchten findet, zuzumuten (vgl. *Fig. 6* auf *Taf. III*).

Was die Züchtung in den gebräuchlichen flüssigen und festen Nährböden, wie Bouillon, Fleischpeptongelatine und Agar,

betrifft, so bildet die Unfähigkeit des Nitritmikroben, auf jenen zu wachsen, ein wichtiges negatives Merkmal. Bouillon läßt er ganz klar, auf Gelatine und Agar bildet er keine Kolonie.

§ 40. Die Züchtung des Nitritbildners auf festen Nährböden.

Um ein Wachstum auf festem Nährboden zu erzielen, mußte man zu ganz besonderen Unterlagen greifen, und es gelang mir (4) das zum ersten Mal auf Kieselsäuregallerte. Die Bereitungsweise dieses Hilfsmittels ist seitdem mehrere Male in den Einzelheiten abgeändert worden. Zu empfehlen ist die folgende, von Omelianski (2) in den Einzelheiten ausgearbeitete Vorschrift für die Bereitung der Gallerte und die Anfertigung von Platten mit derselben.

Zur Bereitung der löslichen Kieselsäure mischt man gleiche Raumteile Wasserglas (vom spec. Gew. 1,05—1,06) und Salzsäure (sp. G. 1,10), indem man die Wasserglaslösung in die Salzsäure eingießt, nicht umgekehrt, und dann dialysiert. Ob Kali- oder Natronwasserglas verwendet wird, ist gleichgültig, nur muß es farblos und klar sein, sonst bekommt man keine haltbare Kieselsäurelösung nach dem Dialysieren. Die Dialyse wird in Pergamentpapierschläuchen vorgenommen, deren Unversehrtheit vorher sorgfältig geprüft werden muß: man klemmt das eine Ende des Schlauches mit einer Schraubenklemme fest, füllt den Schlauch mit Wasser und hängt ihn in vertikaler Richtung auf. Nur solche Schläuche sind tauglich, die an ihrer Oberfläche keine Spur einer Durchsickerung von Wasser merken lassen. Diese Vorprüfung muß mit der größten Sorgfalt vorgenommen werden, weil von ihr die richtige Konzentration des Hydrosols in hohem Maße abhängt. Es ist vorteilhaft, gerade diese Schläuche zu gebrauchen und außerdem nur geringe Mengen auf einmal zu dialysieren, um die Dialyse möglichst schnell fertig zu haben, was für die Haltbarkeit der Gallerte von Bedeutung ist. Gewöhnlich genügt es, wenn man an diese Vorschriften sich hält, einen Tag lang gegen schnell fließendes Leitungswasser und einen Tag gegen 3—4 mal gewechseltes destilliertes Wasser zu dialysieren. Die Dialyse ist fertig, wenn man mit Silbernitrat keine Reaktion resp. nur eine ganz geringe Trübung erhält. Die Lösung ist in sorgfältig gewaschenen Flaschen mit eingeschliffenem Stöpsel aufzubewahren. Wenn man richtig verfährt, so erhält man eine vollständig klare Lösung, ohne die geringste Opaleszenz, welche ungefähr 2 Proz. Kieselsäure enthält, etwa 3 Monate haltbar ist und ganz gut das Sterilisieren bei 115—120° C verträgt.

Um daraus einen festen Nährboden für den Nitritbildner zu bereiten, bedient man sich folgender vier Flüssigkeiten:

1. Amm. sulfuricum 3 g
   Kalium phosphoricum 1 g
   Magn. sulfuricum 0,5 g
   Aq. dest. 100 g
2. Ferrum. sulf. 2-proz. Lösung
3. gesättigte Kochsalzlösung
4. Magnesiamilch, d. h. eine Aufschwemmung von gut durchgesiebter kohlensaurer Magnesia.

50 ccm der Kieselsäurelösung werden in einem Kölbchen mit 2,5 ccm der ersten und 1 ccm der zweiten Lösung versetzt. Von der dritten wird nur ein kleiner Tropfen ganz zuletzt in jede fertig gegossene Platte gebracht. Magnesiamilch setzt man so viel hinzu, daß das Gemisch ein

milchiges Aussehen bekomme. An Stelle der Magnesia läßt sich auch Soda (ca. 0.1 Proz.) verwenden. Jedoch ist das Wachstum bei Magnesia besser.

Will man die Platten innerlich beimpfen, so trägt man in das Kölbchen mit Kieselsäurelösung gleichzeitig mit den Salzen noch eine Oese voll einer guten Zucht des Nitritbildners ein, wozu eine solche zu wählen ist, welche den Mikroben vorwiegend im Zustande freier Zellen enthält. Hierauf wird der Inhalt des Kölbchens, unter ununterbrochenem Schütteln, in sterilisierte kleine und dünnwandige Petri-Schalen ausgegossen. Diese läßt man dann auf einer horizontalen Fläche ruhig stehen, bis die Flüssigkeit zu einer Gallerte gerinnt, was ungefähr nach einer Stunde geschieht.

Will man in Strichen impfen, so darf man nicht vergessen, daß die Gallerte leicht rissig wird; um dies zu verhüten, verfährt man am besten so, daß man einen Tropfen Impfflüssigkeit auf die fest gewordene Platte aufträgt und ihn mit einem stumpfwinklig gebogenen Glasstäbchen vorsichtig auf der Oberfläche ausstreicht.

Bei dem Gebrauche dieser Platten hat man mit der Unannehmlichkeit zu rechnen, daß die Gallerte, zumal wenn sie nicht ganz gelungen ist, manchmal allmählich Wasser abgibt. Darum ist es ratsam, die Schalen anfangs in umgestürzter Lage im Thermostaten zu halten. Das von der Gallerte abgeschiedene Wasser sammelt sich dann unten in dem Deckel, von welchem es mittelst sterilisierter Filtrierpapierstreifen entfernt werden kann.

Es lohnt sich nicht, die Platten nach den Kolonien des Nitritbildners früher zu durchsuchen, als die Platten eine starke Nitritreaktion geben. Erst dann, wenn ein aus der Platte herausgeschnittenes kleinstes Stückchen Gallerte, in Jodstärke oder Diphenylamin eingeworfen, ganz dunkelblau wird, hat man die Sicherheit, daß die Platte schon Kolonien, wenn auch mikroskopisch kleine, des Nitritbildners trägt.

Im allgemeinen läßt sich sagen, daß bei mittelgroßer Aussaat die Nitritreaktion am 5.–6. Tage auftritt, am 10.—12. die Höchststärke erreicht und weiter nach einigen Tagen die Ammoniakreaktion schwindet. Will man das Aussehen der Kolonien studieren, so eignen sich dazu selbstverständlich die durchsichtigen Platten (mit Soda) besser. Die Kolonien erscheinen bei einer 100-fachen Vergrößerung als kleine, äußerst stark lichtbrechende Körperchen mit schwarzen Umrissen. (Vgl. *Fig. 4* auf *Taf. IV.*) Anfangs farblos, gewinnen sie bald eine bräunliche und schließlich eine charakteristische dunkelbraune Färbung. Die oberflächlichen Kolonien behalten ihre anfängliche abgerundete Form (vgl. *Fig. 5* auf *Taf. IV*), während die tiefer liegenden mehr und mehr unregelmäßig eckig erscheinen. In diesem Zustande sind alle die Kolonien den oben beschriebenen Zooglöen der flüssigen Zuchten in dem Sinne analog, daß sie ein ebenso festes Gefüge besitzen; denn berührt man sie mit der Spitze eines haarfein ausgezogenen Glasröhrchens, so verändern sie gar nicht ihre Gestalt und werden als Ganzes in die Gallerte eingedrückt. Erst nach einer gewissen Zeit (10—14 Tagen) sieht man an diesen dunklen Kolonien eine Veränderung eintreten: es entstehen allmählich an einem oder an mehreren Punkten ihres Umfanges farblose, helle Auswüchse oder Säume, die allmählich breiter werden und rund herum zu einem hellen Hofe zusammenwachsen. Allmählich verwandelt sich auf die Weise die ganze dunkle Kolonie

in eine helle Kolonie (vgl. *Fig. 3* auf *Taf. IV*) bis auf einen kleinen dunklen Kern, das Ueberbleibsel des ursprünglichen festen Gefüges.

Auch in diesem Zustande ist das Aussehen der Kolonien ganz charakteristisch, so daß man sie leicht bei Betrachtung mit schwacher Vergrößerung (ZEISS, Obj. A) wiedererkennt. Es gelingt auch meistens, aus der Art des Gefüges der Kolonie zu entscheiden, ob sie rein ist oder nicht; denn reine Kolonien zeigen eine gleichmäßige, feine, bis an den Rand gehende Körnelung, während verunreinigte Kolonien hyaline Säume aufweisen. Entnimmt man nun mit Hilfe eines haarfeinen Kapillarröhrchens von diesen hellen Kolonien eine Probe und untersucht sie im hängenden Tropfen, so findet man die uns schon bekannten freien Zellen, meistens im Zustande lebhafter Bewegung. Wie man sieht, findet man auch auf dem festen Substrat die gleichen Wachstumsformen des Mikroben — Zooglöen und Monaden — wieder, und es sind auch hier, was wir gleich bemerken wollen, dieselben zum Teil unerklärlichen Schwankungen in dem Auftreten beider Formen manchmal zu beobachten.

Da die Kolonien jeder Art doch immer sehr klein bleiben, kaum mit dem bloßen Auge sichtbar, selbst auf gelungenen Kieselsäureplatten, so muß man noch besondere Kunstgriffe gebrauchen, um ein mehr augenfälliges Wachstum zu erzielen und so die Abimpfung zu erleichtern. Das wird, wie bei flüssigen Zuchten, durch wiederholte Ammongaben erreicht: an zwei einander diametral gegenüberliegenden Stellen der Schale werden aus der Gallertschicht kleine Segmente herausgeschnitten, und in die so gebildeten Vertiefungen werden, so oft es nötig ist, ein paar Tropfen einer 10-proz. Ammoniumsulfatlösung hineingebracht, wobei man vor jedem Zusatze die angesammelte überschüssige Flüssigkeit aus den Vertiefungen mit einem sterilisierten Papierstreifen entfernt. Die Oxydation geht dann sehr energisch vor sich, was man an der raschen Auflösung der Magnesia in der Umgebung der einzelnen Kolonien und unter den Strichen erkennt.

Auch in Reagensgläsern auf schiefer Schicht kann man Zuchten auf Kieselsäuregallerte erhalten, wobei man in ganz analoger Weise wie mit den Platten verfährt; auch hier wird üppigeres Wachstum durch wiederholte Ammongaben erzielt. Das makroskopische Aussehen der Striche bietet nichts Charakteristisches.

Da wir zur Reinzüchtung des Nitritbildners uns vorzugsweise der Kieselsäureplatten bedient haben, so wollen wir gleich das dabei befolgte Verfahren in seinen Einzelheiten beschreiben. Will man den Nitritbildner aus dem Erdboden abscheiden, so beginnt man mit einer Einsaat der Erde in den flüssigen Nährboden, worauf noch eine Reihe von Ueberimpfungen (3—4) in die gleiche Unterlage folgen. Dann erst wendet man sich den Kieselsäureplatten zu, wobei man sich streng an die obigen Vorschriften hält. Man studiert die Platten sorgfältig bei einer Vergrößerung von 50—100, wählt eine Reihe oberflächlich gelegener heller Kolonien aus und bezeichnet sie auf irgendwelche Weise für die Entnahme des Impfstoffes. Diese geschieht am besten unter der Kontrolle des Präpariermikroskopes: man sticht die Kolonien mit der haarfein ausgezogenen Spitze eines Glasröhrchens an, worauf man diese durch einen Stoß gegen den Boden des zur Aussaat bestimmten Kölbchens abbricht. Dazu dienen am besten kleine konische Kölbchen mit je 10 ccm der gewöhnlichen Lösung mit Magnesia-Zusatz. Je mehr solcher Ueberimpfungen auf einmal gemacht werden, desto

besser, denn es gelingt bei weitem nicht jede; nicht jede erweist sich auch als rein, selbst wenn sie eine gute Nitritation zeigt. Am häufigsten sind die Mißerfolge, wenn man mit Zooglöa-Zuchten arbeitet und von dunklen Kolonien abzuimpfen genötigt ist. Zur Prüfung auf Reinheit impft man einige Tropfen aus dem nitritierten Kölbchen in gewöhnliche alkalische Bouillon ein und läßt mindestens 10 Tage im Thermostaten stehen. Wenn dann die Bouillonröhrchen noch ganz klar und unverändert sind, so ist man berechtigt, die Reinzüchtung für gelungen zu halten.

Wir haben absichtlich so lange bei der Beschreibung der Bereitung der Kieselsäuregallerte und der Reinzüchtung uns aufgehalten, weil diese Arbeiten eine gewisse Sorgfalt und einiges Geschick erfordern. Hat man keine genügende Kenntnis von dem zu züchtenden Organismus, so stößt man bei seiner Abscheidung auf Fehlerquellen genug. Der spezifische Erreger ist nämlich im flüssigen wie auf den festen Nährböden von einer Reihe kleiner, unscheinbarer Bakterienformen begleitet, welche ihm ziemlich ähnlich sind und sich hartnäckig halten, trotzdem sie kein rechtes Wachstum zeigen und keine rechten Kolonien bilden. So fällt es unter Umständen schwer, ihre Keime bei der Abimpfung zu vermeiden, und noch schwerer, sie zwischen den Zellen des gesuchten Erregers mikroskopisch zu entdecken. Solange man mit rein anorganischen Nährböden arbeitet, sind sie nicht sehr störend. Sobald man aber organische Nährstoffe in die Unterlage einführt, bekommt man sofort Zuchten, welche alles mögliche, nur keinen Nitritbildner enthalten, jedoch von einigen Autoren gerade als diesem angehörig schon angesehen worden sind. Dasselbe gilt auch für den Nitratbildner, und es bezieht sich unsere Bemerkung auch auf diesen.[1])

Zur Züchtung des Nitritbildners auf festem Nährboden eignen sich noch: 1. Agar nach Beijerinck's (1) Vorschrift, 2. Magnesiagipsplatten und 3. Papierscheiben nach Omelianski.

Zur Bereitung von Agar läßt man die Gallerte, nach Lösung in destilliertem Wasser und Filtrieren, in einer Schicht unter Wasser während etwa zwei Wochen faulen. Das überstehende Wasser trübt sich dabei und läßt einen fauligen Geruch erkennen; man ersetzt es einige Male durch frisches. Nach Ablauf zweier Wochen ist der Agar so weit gereinigt, daß er für die Züchtung verwendet werden kann. Der Gallerte werden dann 0,2 Proz. $NH_4NaHPO_4 + 4\,H_2O$ zugesetzt, dann 0,05 Proz. Kaliumchlorid und Kreide, so daß die Platten ein milchiges Aussehen erhalten. Die Anwendung des Doppelsalzes Ammoniumnatriumphosphat ist durch den Umstand bedingt, daß dieses Salz nach Beijerinck nicht auf Agar unter Bildung löslicher Produkte einwirkt. Doch entwickelt sich auf dieser Unterlage der Nitritbildner viel schwächer als auf Kieselsäuregallerte; bis bemerkbare Kolonien entstehen, sind etwa drei Wochen bis ein Monat erforderlich. Auch ist dieser Nährboden für fremde

[1]) Auf diese Weise ist der „auf Gelatine gedeihende nitratbildende Bazillus" von Stutzer zustande gekommen, von dem ich (9) zeigte, daß er ein Gemenge von vier Arten vorstellte. Das hinderte jedoch Stutzer und Hartleb nicht, sich weiter in dieses Gebiet hineinzuwagen, worauf sie zu ihrer Theorie des Salpeterpilzes gelangten. Dieser Aufsehen erregende Versuch, die längst verklungenen ausschweifenden pleomorphistischen Anschauungen wieder aufleben zu lassen, machte eine sofortige Nachprüfung notwendig, die gleichzeitig von Gärtner (1) und von Fraenkel (1) ausgeführt wurde und zu dem Ergebnis führte, daß die Autoren des Salpeterpilzes nun bis zu einem Dutzend voneinander wohl verschiedener Arten zusammengeworfen haben. So folgenschwer hat schon eine mißlungene Isolierung des Nitritbildners gewirkt!

Organismen günstiger als die Kieselsäuregallerte. Die Kolonien des spezifischen Organismus lassen hier keine charakteristischen Merkmale erkennen.

Sehr guten Erfolg lassen dagegen die Magnesiagipsplatten von Omelianski (3) erzielen. Man verfährt auf folgende Weise. Es wird ein vollkommen gleichmäßiges Gemenge von Gips und kohlensaurer Magnesia (von letzterer ca. 1 Proz.) bereitet, worauf man Wasser unter Umrühren bis zur Dicklichkeit von saurem Rahm zusetzt und die Masse auf eine horizontale Spiegelglasplatte ausgießt. Sobald sie teigig geworden ist, sticht man aus ihr runde Scheiben (für Petrischalen) aus, oder schneidet Streifen (für Reagensgläser). Im ersteren Falle dient eine Petrischale von etwas kleinerem Durchmesser als die für die Züchtung zu gebrauchende als Form. Die Platten kommen in die Schale mit der glatten Oberfläche nach oben zu liegen; in die Schale wird dann so viel von der mineralischen Nährlösung gegossen, daß ihr Stand die halbe Dicke der Platte erreicht. Man sterilisiert bei 120° und gießt nachher wieder etwas vorrätige sterilisierte Lösung nach, da die ursprünglich zugesetzte nun aufgesogen zu sein pflegt. Dann trägt man einen Tropfen flüssiger Zucht auf und breitet ihn auf der Oberfläche in der Form von irgend einer Figur aus. Man prüft in der Folge die Reaktion in gewöhnlicher Weise, und wenn die Ammoniakreaktion verschwunden ist, so saugt man die an Nährstoff erschöpfte Flüssigkeit mit sterilisierter Pipette ab und ersetzt sie durch frische. Die Nitritreaktion tritt gewöhnlich schon am 4.—5. Tage auf, und um dieselbe Zeit werden die ersten Kolonien als kleinste Pünktchen von gelblicher Farbe sichtbar. Weiterhin nehmen die Kolonien eine gelblichbraune Färbung an und erscheinen dann als feste Wärzchen, welche wahrscheinlich den dunklen Kolonien auf Kieselsäuregallerte entsprechen. Noch später umgeben sich diese Wärzchen mit einem mehr oder weniger breiten, hellgelben Hofe. Wenn man immer neue Ammongaben zusetzt, so können die Kolonien nach ein paar Wochen einen Durchmesser von 0.5 mm und darüber erreichen, was für diesen Mikroben eine auf anderem Nährboden kaum erreichbare Größe ist. Da die Methode zuverlässig und bequem ist, wird sie wohl berufen sein, eine weite Verbreitung für die Züchtung und Isolierung des Nitritbildners zu finden. In ganz analoger Weise kann man auch längliche Stücke der gleichen Unterlage für die Züchtung in Reagensgläsern verwenden.

Endlich hat Omelianski (4) den Nitritbildner auch auf mit der Ammonlösung getränkten Papierscheiben bzw. Streifen, mit Erfolg entwickeln können. Für die Plattenzucht verfertigt man ein dickes, fest zusammengenähtes Päckchen von Filtrierpapierscheiben, das man in eine Petrischale bringt, nachdem man vorher auf den Boden etwas Magnesia geschüttet hat, und gießt so viel der üblichen Nährlösung zu, daß diese nur bis zu halber Höhe des Päckchens reicht. Dann wird sterilisiert und in Strichen geimpft. Zur Züchtung in Reagensgläser gießt man einige Kubikcentimeter Ammonlösung mit etwas Magnesia in ein weites Reagensglas und tut einen breiteren Papierstreifen hinein, der mit dem unteren Ende in die Flüssigkeit eintaucht und weiter hinauf an die Röhrchenwand angeschmiegt wird. Nach 10—15 Tagen nimmt man die Kolonien als kleine gelbliche Pünktchen wahr, welche allmählich bräunlich werden. Die Prüfung auf Nitrit und auf Ammon und die Zusätze von diesem letzteren geschehen in gewöhnlicher Weise.

§ 41. Beschreibung von Nitritbildnern verschiedener Herkunft.

Wir gehen jetzt zur Beschreibung anderer Arten oder Abarten von Nitritbildnern über, die wir in Erden verschiedener Herkunft aufgefunden haben. Einige von ihnen haben wir nur gelegentlich beobachtet, andere dagegen wiederholt isoliert und längere Zeit weitergezüchtet. Doch sind unsere Kenntnisse über diese Gruppe von Mikroben im allgemeinen noch sehr unvollständig: bis auf den Augenblick haben meine ersten Beobachtungen (5. 8) darüber noch von keiner Seite Bestätigung oder Erweiterung gefunden.

Wie wir bereits erwähnt haben, sind die Nitritbildner, die wir in der Schweiz und in Frankreich gefunden haben, sicher identisch. Es schien der Nitritbildner aus Gennevilliers (*Fig. 2* auf *Taf. III*), den bekannten Berieselungsfeldern bei Paris, besonders energisch zu arbeiten und immer besonders reichlich Monaden zu bilden.

Der Nitritbildner aus dem Petersburger Boden (*Fig. 2* auf *Taf. IV*) unterscheidet sich von dem westeuropäischen deutlich. Er ist ein echter Kokkus von etwa 1 μ im Durchmesser, der manchmal dichtere Zooglöen bildet, manchmal frei wächst. Doch gelang es uns noch nie, Schwärmzustände zu beobachten. Eine ständige Eigentümlichkeit des Aufbaues seiner Zellen ist ein central gelegenes, kernähnliches Körperchen, das fast bei jeder Art Färbung, besonders deutlich durch Methylenblau, sichtbar wird.

Aus anderen europäischen Erden haben wir nur eine Abart aus einem Bodenmuster aus Kasan (Rußland) längere Zeit in Zucht gehabt. Der Gestalt nach ist (*Fig. 3* auf *Taf. V*) sie der westeuropäischen Art ganz ähnlich und bildet längliche Zellchen, welche jedoch immer um etwa ein Drittel kleiner sind als jene. Zooglöen- und Monadenbildung haben wir auch bei dieser Form beobachtet.

Aus überseeischen Erdmustern ist uns der Nitritbildner aus Buitenzorg auf Java besser bekannt. (Vgl. *Fig. 1* auf *Taf. IV*, *Fig. 1* und *2* auf *Taf. V*.) Es ist ein ganz kleiner Kokkus von etwa nur 0,5—0,6 μ im Durchmesser, der auch in Zooglöen und Monaden wächst. Die Zooglöen haben ein ungewöhnlich dichtes Gefüge, so daß man die einzelnen Zellchen kaum unterscheiden kann. Ueberhaupt findet man freie Zellen nur im Schwärmzustande, und auch dann sind sie meistens paarweise verbunden. Nicht selten trifft man auch kleine schwärmende Kolonien aus 3—4 Individuen bestehend. Die Schwärmer zeichnen sich durch eine ungewöhnlich (bis zu 30 μ) lange Geißel aus (*Fig. 1* auf *Taf. V*). Dennoch ist die Bewegung eher eine träge und schwebende, etwa nach der Art der Schmetterlinge. Sobald die Schwärmer zur Ruhe kommen, wachsen sie zu kleinen, unregelmäßig eckigen Kolonien heran, wie man sie auf *Fig. 1* der *Taf. IV* abgebildet sieht. Diese können dann zu größeren, runden Zooglöen heranwachsen, die sich beim Uebergange in den Schwärmzustand wieder in kleine Gruppen bzw. in einzelne Zellen auflösen. (*Fig. 2* auf *Taf. V*.) Auf Kieselsäuregallerte bildet diese Art auch dichte, den dunklen Kolonien der europäischen Art entsprechende Kolonien, die hier heller gelblichbraun gefärbt sind und bei 100-facher Vergrößerung ganz homogen aussehen. Sie gehen auch in lockere helle Kolonien über, welche durch eckige Auswüchse sich auszeichnen.

In einer Erde aus Tokio (Japan) haben wir denselben Organis-



Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Nitritbildner aus Java.
Junge anwachsende Zooglöen aus dem Bodensatze einer Kultur in gewöhnlicher Nährlösung. Deckglaspräparat. Färbung mit Malachitgrün und Gentiana. Vergr. 1000.

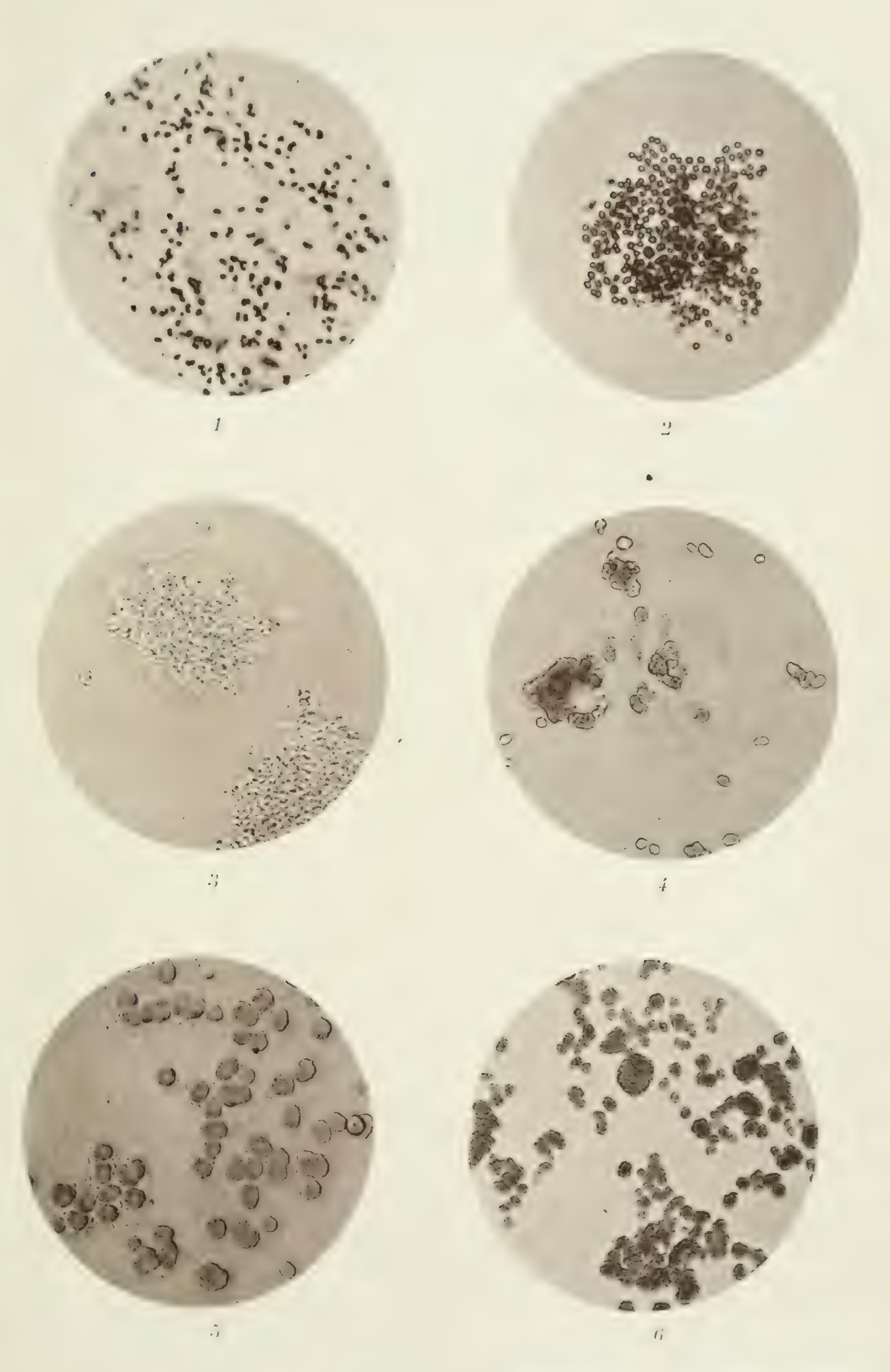
Fig. 2. Nitritbildner aus Petersburg.
Deckglaspräparat aus dem Bodensatze einer Kultur in gewöhnlicher Nährlösung. Färbung mit Methylenblau. Vergr. 1000.

Fig. 3. Nitritbildner aus Zürich.
„Helle Kolonien“ auf Kieselsäuregallerte. Nach dem Leben photographiert. Vergr. 500.

Fig. 4. Nitritbildner aus Zürich.
Kultur auf Kieselsäuregallerte. „Dunkle Kolonien“. Nach dem Leben photographiert. Vergr. 100.

Fig. 5. Nitritbildner aus Zürich.
Kultur auf Kieselsäuregallerte. Oberflächlich gelegene „dunkle Kolonien“. Vergr. 100.

Fig. 6. Nitritbildner aus Zürich.
Bodensatz einer flüssigen Kultur mit vorherrschender Zooglöa-Bildung. In schwacher Jodlösung photographiert. Vergr. 125.



Crayondruck von J. B. Obernetter, München.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.





Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Nitritbildner aus Java.
Schwärmer. Deckglaspräparat aus einer flüssigen Kultur. LOEFFLER'sche Geißelfärbung. Vergr. 1000.

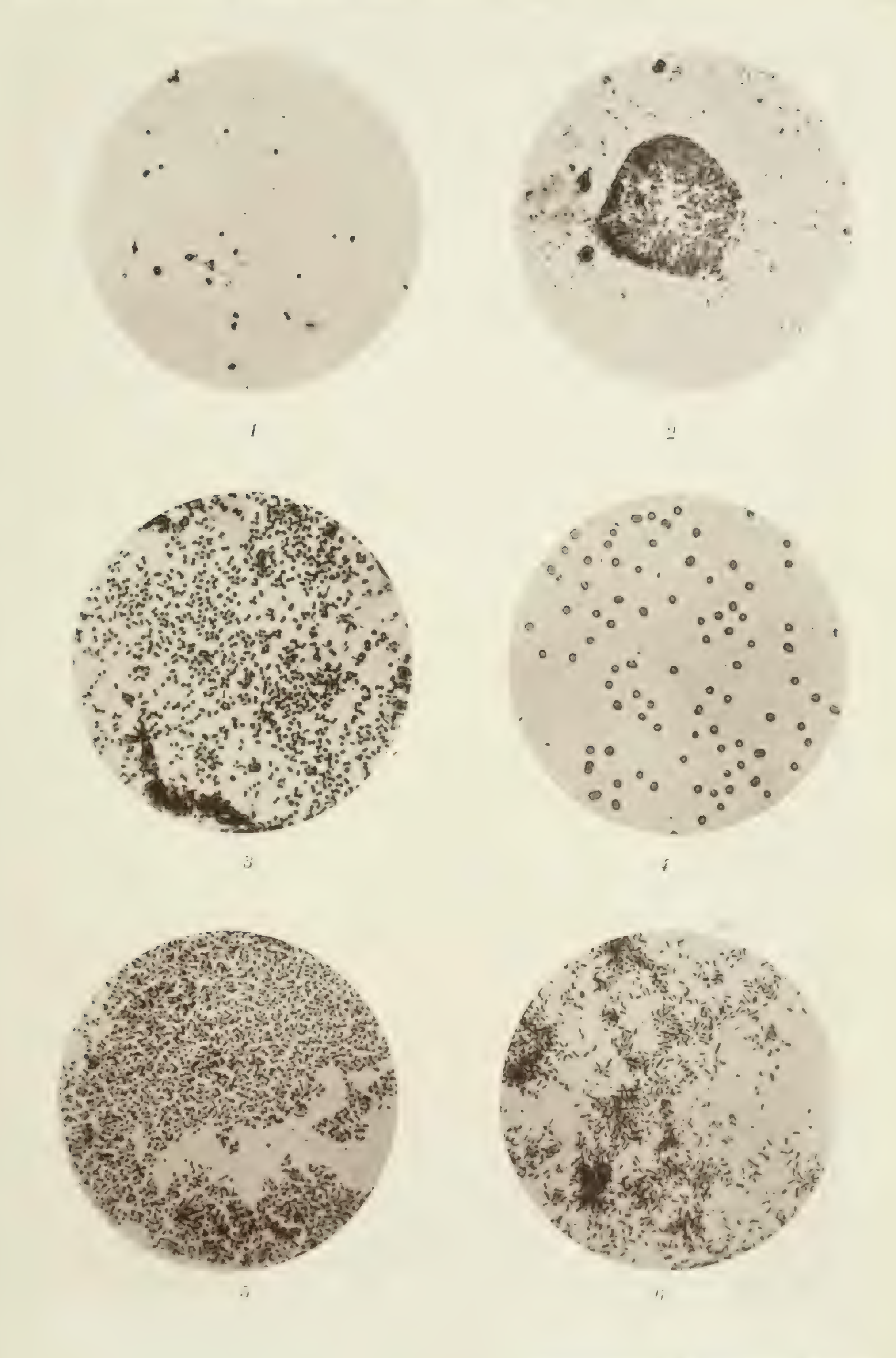
Fig. 2. Nitritbildner aus Java.
Zooglöa im Zustande der Zerstreuung. Aus dem Bodensatze einer flüssigen Kultur. Färbung mit Fuchsin. Vergr. 1000.

Fig. 3. Nitritbildner aus Kasan.
Deckglaspräparat aus dem Bodensatze einer flüssigen Kultur. Färbung mit Anilinwasserfuchsin. Vergr. 1000.

Fig. 4. Nitritbildner aus Quito.
Deckglaspräparat aus einer Kolonie auf Kieselsäuregallerte. Färbung mit Gentiana. Vergr. 1000.

Fig. 5. Nitratbildner aus Petersburg.
Deckglaspräparat aus einer Kultur auf Nitritagar. Färbung mit Karbolfuchsin. Vergr. 1000.

Fig. 6. Nitratbildner aus Quito.
Deckglaspräparat aus dem den Boden des Gefäßes auskleidenden Häutchen in einer flüssigen Kultur. Färbung mit Malachitgrün, Gentiana und Fuchsin. Vergr. 1000.



Crayondruck von J. B. Obernetter, München

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



mus nicht wiedergefunden. Hier glich der Nitritbildner ziemlich der westeuropäischen Art, nur war er etwas kleiner. Die Bildung charakteristischer Zooglöen haben wir mehrmals festgestellt; Schwärmzustände dagegen kamen uns nicht zu Gesicht.

In vier Erdproben aus Nordafrika (Algier, Tunis) haben 5 wir eine dem westeuropäischen Nitritbildner ähnliche Art vorgefunden. Doch waren die Zellchen etwas kleiner, und Zooglöen waren die entschieden vorherrschende Wachstumsform, und zwar in einem Maße, wie man es kaum je in Zuchten europäischer Arten findet. Lange Zeit war alle Bemühung, Schwärmer anzutreffen, umsonst; doch schließlich gelang 10 es in einer Zucht aus Tunis solche, wenn auch in spärlicher Menge so doch mit Sicherheit, zu beobachten.

Einen von dem oben angeführten morphologisch deutlich verschiedenen Nitritbildner habe ich in einer südamerikanischen Erde (aus Quito) gefunden und durch ungefähr ein Jahr fortgezüchtet. 15 Es waren große, 1,5—1,7 μ im Durchmesser haltende Kokken (vgl. *Fig. 4* auf *Taf. V*), welche immer als freie Zellen wuchsen und nie Zooglöen bildeten. Ob sie in den Schwärmzustand übergehen können, vermag ich nicht mit Sicherheit anzugeben. Manchmal merkte man in den Zuchten eine deutliche Trübung, worauf die mikroskopische 20 Untersuchung in der Flüssigkeit verteilte Zellen aufwies; Schwärmzustände sind demnach sehr wahrscheinlich, doch möglicherweise verhältnismäßig schnell wieder vorübergehend. Auf Kieselsäuregallerte bildet diese Art schöne und verhältnismäßig große Kolonien, die aber alle ein gleichartiges Aussehen haben und wie Tröpfchen einer trüben 25 gelblichen Flüssigkeit aussehen. Bei 100-facher Vergrößerung weisen sie ein scharfkörniges Gefüge auf, weil die großen Kokken bei dieser Vergrößerung schon deutlich einzeln zu unterscheiden sind.

In einer Erde aus Campinas (Brasilien) habe ich einen ähnlichen Kokkus gefunden, doch war er noch größer, bis 2 μ messend. 30 Auch in einer Erde aus Melbourne (Australien) habe ich einen sehr ähnlichen, obgleich etwas kleineren Kokkus angetroffen.

Wie man aus dieser gedrängten Uebersicht schließen kann, sind die morphologischen Beobachtungen an der Nitrifikationsflora des Erdbodens noch nicht weit gediehen. Auch kann man derzeit noch keine Vor- 35 stellung haben, welche Einflüsse die Verteilung dieser verschiedenen Formen des Nitritbildners im Erdboden beherrschen: sind sie nämlich nur als örtliche Varietäten anzusehen, deren Auftreten durch örtliche Einflüsse bedingt wird, oder sind sie feste Formen, welche unserem Artbegriffe entsprechen? Der ersteren Vermutung widerspricht die Er- 40 fahrung, daß diese verschiedenen Formen bei einer über mehrere Monate unter gleichen Bedingungen sich erstreckenden Züchtung unverändert bleiben und ihre eigentümlichen Unterscheidungsmerkmale sich bewahren. In letzterem Falle müßte man aber annehmen, daß die örtlichen Bedingungen der ihnen angepaßten Art ein ausschließliches Vorherrschen 45 in bestimmten Gebieten sichern; denn zwei Formen von Nitritbildnern nebeneinander haben wir noch in keiner der von uns untersuchten Erdproben bemerken können, auch nicht, wie wir gesehen haben, in jenen Fällen, in denen diese Proben aus ein und demselben Kontinent stammten. Ob das Meer die Verbreitung eines Nitritbildners 50 begrenzen kann, weiß man noch nicht, denn man verfügt noch nicht über Beobachtungen darüber, ob diese Mikroben im Meerwasser verbreitet und wie lange sie darin lebensfähig sind.

Ueberhaupt sind genaue Beobachtungen über die Verbreitung dieser Mikroben in natürlichen Substraten, besonders in Gewässern, sehr spärlich. Quantitative Beobachtungen fehlen noch vollständig.

§ 42. Die Ernährung des Nitritbildners. Die Kohlensäure-Assimilation.

Eine Eigentümlichkeit des Nitritbildners, auf welche, wie wir gesehen haben, Bakteriologen gar nicht vorbereitet waren, ist es, Nährböden zu meiden, welche gärfähige organische Substanzen enthalten. Schon MUNRO (1) hatte aber bemerkt, daß diese letzteren die Nitrifikation eher schädigen, und schloß daraus, daß den spezifischen Erregern die Spuren von organischen Stoffen, die sich in den natürlichen Gewässern finden, sowohl nach Menge als auch nach Beschaffenheit vollständig genügen. Später hat HERAEUS (1) bei seinen vergeblichen Bemühungen, die Erreger der Nitrifikation reinzuzüchten, die gelegentliche Beobachtung gemacht, daß in einer nitrifizierten mineralischen Nährlösung sich wider Erwarten ziemlich mächtige Bakterienhäute und Flocken gebildet hatten. „Ob und wie dieses Ergebnis“, bemerkt er dazu, „mit der herrschenden Ansicht (der zufolge nur grüne Pflanzen Kohlensäure assimilieren können) in Uebereinstimmung zu bringen sei, mußte vorläufig dahingestellt bleiben.“ Da aber dieser Autor keine reineren nitrifizierenden Zuchten in Händen hatte, in welchen ja niemals Häute und Flocken auftreten, so bezieht sich diese Beobachtung kaum auf die uns interessierenden Organismen und ist höchst wahrscheinlich einfach auf Rechnung einer ungenügend reinen Salzlösung zu setzen.

Seitdem ich den Nitritbildner kennen gelernt hatte, war ich über seine reichliche Vermehrung in rein mineralischen Lösungen erstaunt. Wenn ich das Flußwasser in der Zuchtflüssigkeit durch destilliertes ersetzte, merkte ich (1) in der Entwicklung des Mikroben gar keinen Unterschied. Um über den Einwand, ob nicht vielleicht doch Spuren von organischen Stoffen ihm das Leben möglich machten, ins Reine zu kommen, traf ich (2) folgende Maßnahmen, um absolut reine Lösungen zu bereiten: erstens, wurden die Kolben, wie alle Gefäße, welche zur Bereitung der Lösung dienten, mit kochender, mit Kaliumpermanganat oder Bichromat versetzter Schwefelsäure gereinigt. Das destillierte Wasser, welches man für die Spülung oder für die Bereitung der Lösungen gebrauchte, war zweimal überdestilliert, das zweite Mal mit Zusatz von Schwefelsäure und Permanganat, und zwar in einem ganz aus Glas bestehenden Apparat. Was die Salze betrifft, so wurden das Magnesiumsulfat und das Kaliumphosphat zuvor ausgeglüht, ebenso die Kreide, die man für diese Versuche gebrauchte, worauf man sie wieder mit Kohlensäure übersättigte und diese Kreidemilch in verstopften Gefäßen vorrätig hielt. Endlich, um eine absolut reine Ammoniumsulfatlösung zu haben, zersetzte man das mehrmals umkristallisierte, reine Salz mit Natronlauge und ließ die Ammoniakdämpfe in verdünnte Schwefelsäure überdestillieren. Die Säure ließ man zuerst im konzentrierten Zustande kochen und erst dann verdünnte man sie mit dem zehnfachen Volumen Wasser. Statt Watte gebrauchte man für die so eingerichteten Zuchten dicht schließende Pfropfen von ausgeglühtem Asbest. Unter diesen Bedingungen vermehrte man den Nitritbildner durch mehr als vier Monate hindurch, wobei man bis zu zehn Ueberimpfungen vornahm. Die ganze Zeit hindurch ging

die Entwicklung wie auch die Oxydation sowohl im Lichte als auch in vollständiger Dunkelheit in bester Weise vor sich, was wohl zu dem Schlusse berechtigte, daß der *Nitritbildner normal wachsen und kräftige Wirkung in einem Nährboden ausüben kann, welcher keine Spur von organischer Substanz enthält.* Daraus folgte aber mit Notwendigkeit der Schluß, daß dieser Organismus die Fähigkeit haben muß, Kohlensäure zu assimilieren und zwar durch einen vom Lichte unabhängigen Prozeß. So logisch dieser Schluß auch schien, so mußte er dennoch, in Anbetracht seiner Wichtigkeit, zahlenmäßig bekräftigt werden. Zu diesem Zwecke bestimmte man den brennbaren Kohlenstoff in nitrifizierter Nährlösung, die ursprünglich nachweislich keinen enthielt; oder wenn man nicht eine einwandfrei reine Lösung gebraucht hatte, machte man gleichzeitig eine entsprechende Kontrollbestimmung, um die Korrektion zu ermitteln.

Die Verbrennungen waren in diesem Falle viel bequemer auf nassem Wege auszuführen, und so bediente ich mich (2) eines von WOLF, DEGENER (1) und HERZFELD (1) ausgearbeiteten Verfahrens, dessen Prinzip darin besteht, die Kohlensäure der Karbonate zuerst durch Erwärmen mit verdünnter Schwefelsäure aus der Substanz auszutreiben, dann erst diese durch Kochen in einem Gemisch von Schwefelsäure und Kaliumbichromat zu verbrennen und die nun ausgeschiedene Kohlensäure in einem Kaliapparat aufzufangen und zu wägen. In betreff Einzelheiten dieses Verfahrens sei auf die citierten Arbeiten verwiesen; siehe auch in TIEMANN-GÄRTNER, Wasser-Untersuchung. Wir erwähnen hier nur, daß wir den von jenen Forschern gebrauchten Apparat hauptsächlich in dem Sinne etwas abänderten, daß wir alle Kautschuk-Stöpsel und -Verbindungen ausschlossen und mit einem ganz aus Glas hergestellten Apparat arbeiteten. Dann wurde eine Reihe von Versuchen gemacht, um zu entscheiden, ob nicht der Reichtum der Zuchten an Nitriten das Resultat fälschen könnte. Es hat sich aber gezeigt, daß diese Fehlerquelle überhaupt wenig zu befürchten ist, insbesondere wenn man ein besonderes, mit Phenol-Schwefelsäure beschicktes Waschgefäß einschaltet. Kontrollverbrennungen mit Zucker und Cholesterin haben gezeigt, daß dieses Verfahren gegenüber dem gewöhnlichen elementar-analytischen um ca. 1,5—2 Proz. zu niedrige Befunde liefert.

Um die chemische Analyse einer Zucht auszuführen, verfuhren wir (2, 3) auf die Weise, daß wir die Flüssigkeit durch ein gut ausgeglühtes Asbestbäuschchen filtrierten und dieses in den Kolben des Verbrennungsapparates einbrachten. Zur Bestimmung des Kohlenstoffes in der abfiltrierten trüben Flüssigkeit verwendeten wir gewöhnlich die Hälfte derselben, indem wir sie bis auf ein Volumen von 10—15 ccm eindampften. Die Ergebnisse aller dieser Analysen mit allen zugehörigen Bestimmungen haben wir auf S. 164 zusammengestellt.

Wie man aus der Tabelle ersieht, geht in den Zuchten zugleich mit der Nitrifikation *ein Prozeß der Anhäufung des organisch gebundenen Kohlenstoffes vor sich,* welcher nicht ganz unbedeutende Werte erreicht. Weil dieser Kohlenstoff in den Zuchten keine andere Quelle als die Kohlensäure, und weil der Prozeß selbst keine andere Ursache als die Tätigkeit des nitrifizierenden Organismus haben kann, so blieb nichts übrig, als diesem die *Fähigkeit, Kohlensäure zu assimilieren, zuzuschreiben.* Dabei blieb es vorderhand noch unentschieden, in welcher Form sich die Kohlensäure am

Nr.	Durch die Verbrennung erhaltene Kohlensäure in Milligrammen					daraus berechnet sich ein Reingewinn an brennbarem Kohlenstoff von mg
	aus dem Bodensatz	aus dem Filtrat	zusammen	davon abzuziehende Korrektion	Reinertrag	
1	30,0	13,6	43,6	6,0	37,6	10,2
2	24,0	8,0	32,0	6,0	26,0	7,1
3	14,5	9,0	23,5	6,0	17,5	4,8
4	10,0	7,0	17,0	—	17,0	4,6
5	59,5	26,0	85,5	13,1	72,4	19,7
6	49,6	16,0	65,6	9,8	55,8	15,2
7	87,0	26,0	113,0	16,0	97,0	26,4
8	70,8	21,2	92,0	10,0	82,0	22,4

besten als Nährstoff eignet, ob nämlich die Zellen sie in gebundenem oder in halbgebundenem oder in freiem Zustande aufnehmen und zerlegen, da ja die Kohlensäure in den nitrifizierenden Nährlösungen in allen diesen drei Zuständen vorhanden war.

Weil die Ammoniakoxydation die einzige chemische Energiequelle ist, welche der Nitritbildner benutzen kann, so war es von vornherein klar, daß der Ertrag der Assimilation der Menge des oxydierten Stickstoffes entsprechen muß. In der Tat, es hat sich gezeigt, daß *zwischen den Werten des assimilierten Kohlenstoffes und denen des oxydierten Stickstoffes ein annähernd unveränderliches Verhältnis besteht.* In der unten stehenden Tabelle führen wir die betreffenden Zahlen für vier Zuchten an, in welchen wir zugleich mit dem Kohlenstoff auch eine vollständige Bestimmung des oxydierten Stickstoffes ausgeführt haben:

	Nr. 5	Nr. 6	Nr. 7	Nr. 8
Oxydierter Stickstoff	722,0 mg	506,1 mg	928,3 mg	815,4 mg
Assimilierter Kohlenstoff	19,7 „	15,2 „	26,4 „	22,4 „
Verhältnis (N : C)	36,6	33,3	35,2	36,4

Wie man sieht, *entsprechen einem Teile assimilierten Kohlenstoffes nicht weniger als im Mittel 35,4 Teile oxydierten Stickstoffes oder 96 Teile salpetriger Säure.* Diese Tatsache gibt eine physiologisch gut begründete Erklärung des im Vergleiche zum Verhalten anderer Bakterien ungemein langsamen Wachstums und der Kärglichkeit der Neubildung organischer Substanz von seiten des Nitritbildners, durch welche er sich in hervorstechender Weise von anderen „Saprophyten" auszeichnet.

Gegen dieses wichtige Ergebnis, daß der Nitritbildner, als farbloser Organismus und ohne Mitwirkung des Lichtes, Kohlensäure assimilieren kann, hat Elfving (1) den Einwand erhoben, daß die Zuchten, weil sie durch keine besonderen Maßnahmen vor der Einwirkung der Luft geschützt wurden, imstande waren, Spuren von flüchtigen organischen Substanzen aufzunehmen, die ja in der Laboratoriumsluft selten fehlen. Durch einen Versuch mit einem Schimmelpilz bewies er in der Tat, daß dies auch tatsächlich geschieht; doch lassen seine Zahlen auch keinen Zweifel darüber, daß diese Quelle zu keiner irgendwie bedeutenden Anhäufung von Kohlenstoff in den Zuchten führen kann. Trotzdem

daß er mit einem Schimmelpilz arbeitete, der ja Lufthyphen aussendet und auf diese Weise eingerichtet ist, etwaige flüchtige Substanzen aus der Luft aufzunehmen, fand er in sieben Zuchten nach fünfmonatlichem Stehen zusammen so viel Kohlenstoff, als man in einer Nitritzucht nach etwa der halben Frist findet. Dabei ist noch zu bedenken, daß die Aufnahmsfähigkeit der Zuchten für flüchtige Substanzen, weil die Zellen des Nitritbildners sich unter Wasser befinden, keine merklich höhere als die der Kontrollkolben sein kann, welche ja die von den erhaltenen Analysen-Befunden abzuziehenden Korrektionen angeben. Da schließlich der Kohlenstoffgewinn nicht von der Zeit der Führung der Zuchten, sondern ausschließlich von der Menge des oxydierten Stickstoffes abhängt, so war Elfving's Einwand, soweit er sich auf den Nitritbildner bezog, als hinfällig zu erachten.

Wir verdanken Godlewski (1) eine erneute experimentelle Prüfung der ganzen Frage. Dieser Forscher arbeitete mit dem Nitritbildner, welchen er nach unserer Vorschrift züchtete, jedoch hielt er angesichts der Elfving'schen Angaben seine Zuchten unter drei Glocken, die mittelst konzentrierter Schwefelsäure, bzw. übermangansauren Kali bzw. Kalilauge gegen die Außenluft gesichert waren. Ueberall ging die Nitritation gut mit Ausnahme jener Zuchten, die durch Kalilauge abgesperrt waren, woraus Godlewski schloß, daß 1. es unwahrscheinlich sei, daß die in rein mineralischer Lösung sich entwickelnden Nitromonaden ihren Kohlenstoff aus flüchtigen organischen Verbindungen beziehen; denn sonst müßte die die Glocken absperrende Schwefelsäure, bzw. das übermangansaure Kali, ihre Entwicklung und also die Nitrifikation unterdrücken; 2. daß es für den betreffenden Organismus auch unmöglich ist, den Kohlenstoff unmittelbar der basisch-kohlensauren Magnesia zu entnehmen, denn sonst könnte nicht die Kalilauge als Absperrflüssigkeit die Nitrifikation beeinträchtigen; 3. daß die Nitromonaden höchstwahrscheinlich den Kohlenstoff aus freier Kohlensäure oder aus der Kohlensäure der doppelt kohlensauren Salze schöpfen. Weitere zwei Reihen von Versuchen lieferten Godlewski wesentlich die gleichen Ergebnisse. Zu diesen Versuchen benutzte er verschlossene, mit Quecksilber gedichtete und mit Barometerröhren versehene Kolben, welche je 100 ccm der mit dem Nitritbildner beimpften Nährlösung enthielten. An den Barometerröhren konnte man die Sauerstoffabsorption in den Kolben, mithin auch den Gang der Nitritation beurteilen, nach deren Beendigung man durch die Analyse eine vollständige Bilanz von Kohlensäure, Sauerstoff und Stickstoff feststellte. Es hat sich dabei nun gezeigt, daß in den Flaschen, welche besondere Gaben von Kohlensäure erhielten, die Nitritation immer in normaler Weise von statten ging, während von den Flaschen, welche keine Kohlensäure besonders bekommen haben, die eine, welche mit einem gewöhnlichen, mit Quecksilber gedichteten Kork verschlossen war, den Prozeß in normaler Weise zeigte, die andere hingegen, welche statt des Korkes einen Glashelm trug, keine Nitritation erkennen ließ. Nach Godlewski's Deutung trägt gerade der Kork, der durch Oxydation etwas Kohlensäure abgegeben haben sollte, die Schuld an der „unerwarteten Erscheinung, daß die Nitrifikation nicht nur in dem kohlensäurehaltigen Gefäß, sondern auch in dem stattfand, zu welchem man keine Kohlensäure zugeführt hatte", worin man diesem Autor kaum zustimmen kann. Da freie Kohlensäure ja bei dem Nitritationsprozeß unaufhörlich entsteht, so müssen ganz unbedeutende Spuren davon genügen, um die wenigen eingeimpften Zellchen zu ernähren, was ihnen dann erlauben

wird, den Prozeß in Gang zu setzen. Wenn er aber einmal fortschreitet, so wird freie bzw. halbgebundene Kohlensäure ja immer im Ueberschusse zur Verfügung stehen. In der Tat haben einige Versuche in meinem Laboratorium gezeigt, daß einerseits es nicht nötig ist, größere Mengen von Kohlensäure den Zuchten zuzuführen, daß geringste Spuren davon genügen, um eine Zucht in Entwicklung zu bringen; andererseits kann auch der Prozeß normal sich abspielen, wenn man die Zuchten in kohlensäurefreier Atmosphäre hält, nur muß man sie sehr reichlich beimpfen, bzw. frisch beimpfte Kulturen einige Tage (bis 5) frei an der Luft stehen lassen und dann erst unter eine Glocke mit Kalilauge stellen. In diesem Falle kann das Entziehen der Kohlensäure offenbar darum das Wachstum nicht zum Stillstande bringen, weil in der Lösung immer neue Mengen von Kohlensäure in dem Maße entstehen, als sie dem Nährboden entführt werden.

Wie dem auch sei, ist es jedenfalls das Verdienst GODLEWSKI's, nachgewiesen zu haben, das keine Entwicklung des Nitritbildners und mithin keine Nitritation ohne freie bzw. halbgebundene Kohlensäure möglich ist, und dieses Ergebnis ist in meinem Laboratorium durch Hunderte von Züchtungsversuchen bestätigt worden. Daß diese Kohlensäure als Kohlenstoffquelle für die Ernährung des Nitritbildners dient, ist schon oben zahlenmäßig bewiesen worden.

§ 43. Der Einfluß verschiedener organischer und anorganischer Substanzen auf die Nitritation.

Daß die Kohlensäure die einzige Kohlenstoffquelle vorstellt, die benutzt werden kann, ist auch sehr wahrscheinlich. Wenigstens haben Versuche, diese Säure durch organische Nährstoffe zu ersetzen, ein vollständig negatives Ergebnis gehabt. Gibt man den Zuchten neutrale Karbonate und kleine Mengen (0.02 Proz.) von Glucose, Pepton oder Glycerin, hält sie aber strenge kohlensäurefrei, so kommt niemals eine Entwicklung oder eine Nitritation zustande. Freilich sind in dieser Richtung noch nicht genug Versuche angestellt, doch sprechen sehr zugunsten des Schlusses, daß der Nitritbildner nur Kohlensäure als Kohlenstoffnahrung annimmt, die Beobachtungen von mir und OMELIANSKI (1), welche gezeigt haben, daß organische Substanzen gar keine günstige Wirkung auf die Nitritation in Reinzucht ausüben. Und nicht nur das, sondern es wird durch die Anwesenheit gerade der besten der „organischen Nährstoffe" die Entwicklung des Nitritbildners schon bei geringen Konzentrationen gehemmt, bzw. gänzlich aufgehoben.

Da dieses in Reinkultur geschieht, so kann diese Wirkung nicht durch die Konkurrenz, bzw. durch die schädlichen Stoffwechselprodukte von fremden Bakterien, erklärt werden, sondern es bleibt folgerichtig nichts anderes übrig als diese, sonst als gute Nährstoffe bewerteten Substanzen vom Standpunkte der Nitrifikationsmikrobiologie zur Gruppe der antiseptischen, oder besser gesagt nitrifikationswidrigen Stoffe zu zählen. Besonders bemerkenswert ist die Wirkung von Glucose und von Pepton: so wird die Nitritation schon durch einen Gehalt von 0.025 Proz. dieser Stoffe um 10 Tage verzögert, durch 0,05 Proz. um ca. 15, durch 0,1 Proz. um ca. 30 Tage; durch 0,2 Proz. schließlich wird der Prozeß gänzlich unterdrückt. Wie man sieht, ist die nitri-

fikationswidrige Wirkung dieser Körper höher als der entwicklungshemmende Wert mehrerer anerkannter Antiseptika, wie Phenol, Kresol, Resorcin, Salicylsäure und andere. Die unten folgende Tabelle gibt die Zusammenstellung unserer Versuche über den Einfluß organischer Substanzen auf den Nitritbildner wieder; die Zahlen der ersten Reihe sind, in Prozenten ausgedrückt, die schwächsten Gaben, welche schon eine merklich hemmende Wirkung ausüben, die der zweiten geben die Konzentration an, welche die Nitritation ganz verhindern. Das Zeichen bedeutet „mehr“ als die darauf folgende Zahl, jedoch wahrscheinlich nicht weit davon entfernt.

Glucose	0,025	0,2
Pepton	0,025	0,2
Asparagin	0,05	0,3
Glycerin	·0,2	?
Harnstoff	·0,2	?
Essigsaures Natrium	0,5	·1,5
Butters. Natrium	0,5	·1,5
Fleischbouillon	10	20—40.

Betrachtet man diese Zahlen, so ist man berechtigt das folgende Gesetz daraus zu folgern: je komplizierter, zersetzbarer und für die Mehrzahl der Mikroben assimilierbarer das Molekül einer organischen Substanz ist, desto größer ist deren nitrifikationswidriger Einfluß. Dieser Satz wird noch weiter unten in den Versuchen mit dem Nitratbildner seine Bestätigung finden.

Ueber die Wirkung verschiedener anorganischer Substanzen auf die Nitritation, bzw. auf die mit dieser unzertrennliche Entwicklung ihrer Erreger, haben BOULLANGER und MASSOL (1) eine Reihe von Beobachtungen angestellt, welche wir kurz anführen werden. Unter diesen Stoffen sind natürlich diejenigen, welche das Material für die Ernährung und für die Nitrifikation liefern, wie auch jene anderen, welche die Produkte des Prozesses sind, die wichtigsten: also einerseits Ammonsalze, andererseits Nitrite und Nitrate. Die günstigste Konzentration des gebräuchlichsten Ammonsalzes, des Ammoniumsulfates, liegt, wie wir schon oben erwähnt haben, ungefähr bei 2—2,5 g pro Liter. Eine Versuchsreihe, in welcher die genannten zwei Forscher immer steigende Konzentrationen dieses Salzes angewendet haben, hat nun folgendes Ergebnis geliefert. Alle Zuchten, welche mehr als 6 g pro Liter enthielten, waren nach zwei Monaten noch nicht fertig nitritiert; darunter enthielten noch reichlich Nitrite die Zuchten mit 30 g Ammoniumsulfat pro Liter in einem Falle, mit 50 g pro Liter in einem anderen, darüber hinaus aber keine mehr. Bei 6 Promille wird also der Prozeß merklich gehemmt, doch verläuft selbst bei 30—50 g pro Liter die Nitritation noch langsam. Was die Wirkung der gebildeten Nitrite betrifft, so ist sie verschieden, je nachdem es sich um Alkalinitrite oder um Nitrite der alkalischen Erden handelt. So wird die Nitritation bei einem Gehalte von 8—10 g Magnesiumnitrit pro Liter verlangsamt und bei einem Gehalte von 13—15 g pro Liter ganz sistiert. Calciumnitrit schien eine etwas stärker hemmende Wirkung zu haben als Magnesiumnitrit. Empfindlicher gegen beide zeigte sich der Prozeß, wenn Nitrite von Anfang an, schon bei der Impfung,

zugleich mit Ammonsalz in der Lösung zugegen waren: dann war schon bei Konzentrationen von 1—10 g pro Liter eine Hemmung von seiten des Magnesiumnitrites zu bemerken, die mit Calciumnitrit ausgesprochener, mit Kaliumnitrit und mit Natriumnitrit aber sehr stark war. So genügte schon eine Gabe von 1 Promille, um den Prozeß um 45 Tage bis 3 Monate zu verlängern, während er in den Kontrollkolben in 7—10 Tagen vollendet war. Wesentlich dasselbe Ergebnis erhält man mit den entsprechenden Nitraten, wenn sie gleich von Anfang an in der Lösung zugegen sind: so soll Natriumnitrat schon bei 1 Promille die Nitritbildung deutlich hemmen, Kaliumnitrat erst in höherer Gabe, Calciumnitrat und Magnesiumnitrat waren für den Organismus aus Java erst über 10 Promille schädlich, für einen anderen aus den biologischen Kläranlagen dagegen schon bei niederen Konzentrationen.

Nach denselben Forschern kann eine *Nitritbildung auf Kosten von sehr verschiedenen Ammonverbindungen*, selbstverständlich bei Anwesenheit einer kohlensauren Base, *stattfinden*. So wurden nachfolgend genannte Salze in einer 257 mg Ammoniak pro Liter entsprechenden Konzentration geprüft und mit ihnen positive Resultate erhalten: das Arseniat, Nitrat, Nitrit, Borat, Bromid, Karbonat, Chlorid, Fluorid, Hyposulfit, Phosphat, Ammonium-Magnesium-Phosphat, Sulfit und Sulfid. Das Ammoniumarsenit und das Jodid werden nur in einer Konzentration von 0,5—1 g pro Liter ertragen und oxydiert. Dagegen werden noch 2 Promille Ammoniumborat- und Ammoniumfluorid-Lösungen gut nitrifiziert. Als kohlensaure Base können nach Boullanger und Massol (1) Verbindungen sehr verschiedener Metalle verwendet werden: so sollen die Karbonate von Baryum, Strontium, Zink, Blei, Nickel, Mangan, Kupfer, Eisen, Wismut vom Nitritbildner benutzt und gut vertragen werden. Wenn diese Versuche sich bestätigen, wird daraus zu schließen sein, daß der Nitritbildner verhältnismäßig geringe Empfindlichkeit gegen sonst entwicklungswidrige anorganische Stoffe, wie Borate, Fluoride, Salze schwerer Metalle usw. an den Tag legt. Boullanger und Massol geben auch an, daß der Nitritbildner gegen organische Säuren wenig empfindlich ist, wenn man diese ihm in der Form von Ammonsalzen bietet. So werden Ammoniumlactat, -Malat und -Succinat noch in einer Konzentration von 10 g pro Liter nitritiert; für das Tartrat, Acetat, Formiat, Urat ist 6 g pro Liter die Grenzkonzentration. Das Ergebnis stimmt mit unseren Befunden gut überein, da es nicht weniger als 5 Promille von essigsaurem und buttersaurem Natrium bedurfte, um den Prozeß zu verlangsamen, und 15 Promille um ihn ganz zu unterdrücken.

§ 44. Das Verhalten des Nitritbildners den Stickstoffverbindungen gegenüber.

Ueber die Stickstoffernährung des Nitritbildners wissen wir nicht mehr als das Eine, daß er den zu seinem Wachstum notwendigen Stickstoff aus dem Ammoniak (vielleicht auch aus dem Nitrit) beziehen kann. Was den Oxydationsprozeß betrifft, so haben wir schon oben dessen äußere Bedingungen erörtert. Der feinere Chemismus des Prozesses ist noch dunkel. Namentlich haben die Versuche von Omelianski (6), eine *nitritbildende Oxydase* zu isolieren, bis jetzt keinen Erfolg gehabt.

Soviel steht fest, daß die *oxydierende Tätigkeit des Nitritbildners sich einzig und allein auf Ammoniakstickstoff erstreckt*. Der Stickstoff der Proteinkörper, der Amide und der Amine wird gar nicht angegriffen, wie auch diese Körper gar keine Anzeichen einer Zersetzung zeigen, wenn man in ihre Lösung eine Reinzucht des Nitritbildners einbringt. Die gegenteiligen Angaben von WARINGTON, FRANKLAND u. a. finden darin ihre Erklärung, daß diese Forscher keine Reinzuchten besaßen. Außerdem muß man bei derartigen Versuchen sich sehr in acht nehmen, daß nicht durch die Einwirkung von Wasser auf Amide, namentlich beim Sterilisieren, geringe Mengen von Ammoniak entstehen, welche dann durch den Nitritbildner oxydiert werden und eine Nitrifikation der angewandten Amide vortäuschen. Es sind also bei diesen Versuchen Harnstoff, Asparagin und andere amidartige Stoffe, wie auch Harn, ausschließlich kalt, durch Filtrieren, zu sterilisieren. Außerdem muß der Harn von Ammonsalzen befreit werden, die er bekanntlich immer, auch im frischen Zustande, enthält. Das tut man am besten, indem man zum frischen Harn 1 Proz. Soda zufügt und im Vacuum über Schwefelsäure stehen läßt, bis man keine Reaktion mehr mit NESSLER's Reagens erhält. Durch eine Reihe von Versuchen, bei denen diesen Vorsichtsmaßregeln entsprochen und außerdem jedesmal die Reinheit und die Wirksamkeit des Impfmaterials kontrolliert wurde, hat nun OMELIANSKI (1) gefunden, daß *Harnstoff*, *Asparagin* (beide 1-proz.), *Eiereiweiß* (0,1-proz.), *Bouillon* und *Harn* (5 zu 100) in einer alkalisch gemachten Nährsalzlösung gar keine Spur von Nitritbildung während Monaten erkennen lassen. Die Lösungen blieben klar und unverändert und enthielten auch zu keiner Zeit Ammoniak. Dasselbe hoffnungslos negative Ergebnis hat man auch bei Anwendung einer nach dem Beispiele von WARINGTON sehr verdünnten Asparaginlösung (0,02 Proz.) bekommen.

Nicht einmal *Amine*, die ja doch dem Ammoniak chemisch so sehr verwandt sind, werden durch den Nitritbildner angegriffen. Nach Angaben von MUNRO (1) und von DEMOUSSY (1) werden *Methyl-* und *Dimethylamin* durch die Bodenmikroben unter Bildung von Ammoniak zersetzt, wonach erst Nitrifikation eintritt. Nach Versuchen von OMELIANSKI unterliegen die Chloride des Methyl- und des Dimethylamins in einer Reinzucht des Nitritbildners keiner Nitrifikation. Es wurden Lösungen von 0,5 Promille dieser Stoffe mit der üblichen Menge der gewöhnlichen Nährsalze angewendet; dabei hielt man eine gleiche Kontrollprobe dieser Lösung unbeimpft zugleich mit den beimpften Kolben im Thermostaten und bestimmte nach 4 Monaten in beiden quantitativ, durch Abdestillieren und Titrieren, die übriggebliebene Base. Es war gar kein Unterschied zwischen den beimpften und den unbeimpften Kolben zu erkennen.

Aus allen diesen Versuchen ist zu schließen, daß der *Nitritbildner sich dem Stickstoff der protein- und amidartigen Körper gegenüber ganz unwirksam erweist: einer Ammoniak abspaltenden Tätigkeit ist er gänzlich unfähig, und er kann auch, wie von vornherein zu erwarten war, keine unmittelbare Oxydation des organischen Stickstoffes zustande bringen*.

§ 45. Morphologie des Nitratbildners.

Dieser Organismus wurde im Jahre 1891 entdeckt und zwar in nitrifizierenden Zuchten, welche mit einer Erdprobe aus Quito beimpft worden waren. Zuerst hat man ihn in Lösungen gezüchtet, welche durch den Nitritbildner fertig nitritiert waren, und dann in einer Natriumnitritlösung mit Zusatz von gewöhnlichen Nährsalzen und etwas Magnesiumkarbonat oder Soda. Makroskopisch ließen die beimpften Lösungen weder Trübung noch Häutchenbildung und überhaupt kaum irgend welche äußere Merkmale einer Entwicklung erkennen. Erst als man eine Zucht durch wiederholte Nitritzusätze bereicherte, gelang es, einen bläulich schimmernden Schleim zu unterscheiden, welcher den Boden und die Wände des Kolbens, soweit die Flüssigkeit reichte, auskleidete. Goß man die Flüssigkeit ganz aus, so blieb der Schleim am Glase haften, auch dann, wenn man das Gefäß wiederholt mit Wasser ausspülte. Untersuchte man diesen Schleim mikroskopisch, so fand man, daß er ein dünnes Häutchen darstellte, welches aus einer Schicht winziger, meist spindelförmiger, schwach kontourierter, schwer sich färbender Stäbchen gebildet war. Das war der Nitratbildner aus Quito (vgl. *Fig. 6* auf *Taf. V*), welcher dann durch Züchtung auf einer durch Kieselsäuregallerte gelatinierten Nitritlösung isoliert wurde. Später wurden die spezifischen nitratbildenden Organismen aus dem Petersburger Boden (*Fig. 5* auf *Taf. V*) und aus einem deutschen Boden (Northeim a. d. L.) in Nitritnährlösung gezüchtet und mit Hilfe von Nitritagar isoliert, welcher bequemer im Gebrauche ist als die Kieselsäuregallerte und als ebenso günstig wie diese sich erwiesen hat.

Der Nitritnährlösung gab man folgende Zusammensetzung:

Natriumnitrit (Natr. nitros. puriss. MERCK)	1,0 g
Kaliumphosphat	0,5 g
Magnesiumsulfat	0,3 g
Soda (wasserfrei)	1,0 g
Natriumchlorid	0,5 g
Ferrosulfat	0,4 g
Dest. Wasser	1 l.

Bei der Bereitung von Nitritagar vermied man einen Ueberschuß von Magnesiumsalz und Phosphat, um eine absolut reine, niederschlagsfreie Gallerte zu erhalten. Man nahm:

Natriumnitrit	2 g
Soda (wasserfrei)	1 g
Kaliumphosphat	Messerspitze
Agar	15 g
Flußwasser	1 l.

Beide europäischen Organismen waren weder unter dem Mikroskope noch auch durch das Verhalten ihrer Zuchten von einander zu unterscheiden. Mikroskopisch glichen sie auch vollständig dem Quito-Bakterium, nur bildeten sie kein schleimiges Häutchen sondern einen pulverigen Bodensatz, der aber so gering war, daß man ihn in diesen, immer einen unbedeutenden mineralischen Niederschlag enthaltenden Zuchten kaum merken konnte.

Das Wachstum der Kolonien auf Nitritagar ist ein un-

gemein langsames. Während der ersten Woche sieht man gewöhnlich so gut wie nichts; darum läßt man besser die Platten zehn Tage bis zwei Wochen ruhig stehen und untersucht erst dann bei 150—200-facher Vergrößerung. Vor Ablauf dieser Frist kann nur ein geübtes Auge in den kleinen, stark lichtbrechenden Körnchen die jungen Kolonien erkennen. Nach zwei Wochen haben die tief liegenden Kolonien der weder zu dicht, noch zu dünn besäten Platten das Aussehen von runden, ovalen, eckigen, herz- oder linsenförmigen Körperchen, deren Durchmesser 30—50 μ beträgt; sie erscheinen glänzend, scharf kontouriert und etwas bräunlich. Bis an die Oberfläche vorgedrungen, verändert die Kolonie ihr Aussehen, indem die dichte Masse von dem Umfang nach der Mitte zu sich in einen farblosen, schwächer lichtbrechenden, sehr zart punktierten Schleim verwandelt; in der nunmehr kreisförmigen Masse sieht man einen dichteren Klumpen meistens excentrisch liegen. An den Oberflächenplatten haben die Kolonien von Anfang an das Aussehen von runden, fast homogenen Tröpfchen, welche nach zwei Wochen einen Durchmesser von 100—180 μ erreichen.

Es gelingt leicht, Zuchten im Reagensglas auf dem gleichen Nährboden zu bekommen. Man bestreiche die Oberfläche einer schief erstarrten Agarschicht mit einer Platinöse voll fertig nitratierter Lösung und lasse zwei Wochen bei 30° stehen; dann wird sich die bestrichene Fläche deutlich matt zeigen, worauf man bald mit dem bloßen Auge unzählige kleinste Tröpfchen unterscheidet, die aber selbst nach Wochen nicht zu einem einheitlichen Striche zusammenfließen. Wenn man nun aus dieser Zucht frische Röhrchen mit Hilfe einer Platinöse strichweise beimpft, so bekommt man schon nach 8 Tagen regelrechte Strichzuchten. Der Strich ist schmutzig weißlich und sieht oben fettig trocken aus; am unteren Ende sammelt sich ein verhältnismäßig ansehnlicher, dünnflüssiger Tropfen.

Impft man von diesem Material mit einer Oese in ein Kölbchen mit 25 ccm Nitritnährlösung ein, so dauert es nur 3—4 Tage, bis die Nitritreaktion verschwindet, was gewöhnlich bei Impfung mit einem Tropfen flüssiger Zucht erst nach etwa 10 Tagen und mehr eintritt. Die raschere Oxydation ist hier einfach Folge der Beimpfung mit einer reichlicheren Aussaat, was offenbar um so stärker ins Gewicht fallen muß, je langsamer die Vermehrung des betreffenden Organismus vor sich geht; und letzteres trifft in hohem Maße für das Nitratbakterium zu.

Bei dessen Isolierung mit Hilfe von Nitritagarplatten muß man sich sehr in acht nehmen, den spezifischen Organismus nicht mit anderen, meist unscheinbaren Bodenbakterien zu verwechseln, welche auch auf diesem Nährboden etwas ähnliche Kolonien bilden. Doch zeichnet sich der Nitratbildner von ihnen durch sein langsameres Wachstum aus, so daß man gut tut, die allerkleinste Art von Kolonien für die ersten Abimpfungen zu wählen. Man verfährt in der Weise, daß man 5—6 Platten mit sehr verschiedenen Impfmengen gleichzeitig anlegt und etwa 3 Wochen bei 30° stehen läßt. Nach dieser Frist wird das Verschwinden der Nitritreaktion ein untrügliches Zeichen dafür sein, daß der Nitratbildner auf den Platten zur Entwicklung gelangt ist. Dann untersucht man die Platten bei einer etwa 100—150-fachen Vergrößerung und wählt charakteristische Kolonien zur Abimpfung aus. Diese letztere nimmt man bei einer 100-fachen Vergrößerung vor, wobei man die Kolonien mit der haarfein ausgezogenen Spitze eines Glasröhrchens aussticht und die Spitze in dem zu beimpfenden Kölbchen abbricht. Hat

man eine größere Anzahl von Kölbchen beimpft, so wird man fast immer in einigen von ihnen den Nitratbildner rein erhalten. Um Gewißheit darüber zu erlangen, beimpft man Bouillon mit einigen Tropfen nitratierter Flüssigkeit: die Bouillon darf sich dadurch in der Folge nicht ver-
5 ändern. Die ganze Arbeit der Abscheidung des Organismus aus dem Boden nimmt nicht weniger als 2—3 Monate in Anspruch, da man vorerst noch einige Ueberimpfungen (2—3) in Nitritlösung vornehmen muß, um erst dann an die Züchtung auf Nitritagar zu schreiten.

Die mikroskopische Untersuchung kann auch über die Reinheit der
10 Kultur bis zu einem gewissen Grade Aufschluß geben. Der Nitratbildner ist nämlich durch seine schwere, darin an das Verhalten von Sporen erinnernde Färbbarkeit von den ihn begleitenden kleinen Stäbchenarten zu unterscheiden: wenn man also mit Gentianaviolett einige Sekunden lang kalt färbt, so werden die gutgefärbten Stäbchen, die man im
15 Präparate trifft, nicht dem Nitratbildner sondern irgend einer verunreinigenden Art angehören; zwischen diesen wird man dann bei aufmerksamer Untersuchung ganz farblose Stäbchen in Menge finden, welche gerade die des Nitratbildners sind.

Für das Studium der Morphologie der Zellchen dieses Or-
20 ganismus eignen sich die Zuchten auf Nitritagar am besten. Nach dem Färben mit Karbolfuchsin unter Erwärmen und darauffolgendem Waschen mit verdünntem, angesäuertem Alkohol, erscheinen die Zellchen stäbchenförmig, am einen Ende oder an beiden verjüngt, unter 1 μ lang und etwa 0,3—0,4 μ dick. Die Färbung ist dabei keine gleichmäßige;
25 nur der mittlere Teil der Stäbchen erscheint gefärbt, die zugespitzten Enden dagegen sind fast farblos (vgl. *Fig.* 5 auf *Taf.* V). Bei Anwendung von LOEFFLER'schem alkalischem Methylenblau färben sich nur die in den Zellchen (meistens in der Einzahl) vorhandenen Körnchen kräftig; der übrige Teil des Zelleibes ist so blaß, daß man mit Mühe die Kontouren der Stäb-
30 chen um die Körnchen herum sucht. Wenn man nicht stark genug färbt, sieht man nur Häufchen dieser unmeßbar kleinen Körnchen, weil man die Stäbchen nicht unterscheiden kann. Schon nach dieser Behandlung beobachtet man um die Stäbchen einen farbigen Hof, welcher das Vorkommen einer Schleimhülle oder Kapsel vermuten läßt. Um
35 diese hervortreten zu lassen, färbt man durch einige Sekunden mit Gentianaviolett unter Erwärmen, wäscht aber nicht mit Wasser, sondern mit 2-proz. Kochsalzlösung und untersucht in einer solchen von 10 Proz. Gehalt. Die Zellchen erscheinen dann von violetten Höfen umgeben, die nach außen sich verlieren, nach innen dagegen farblose Körperchen
40 scharf umgrenzen. Diese letzteren erscheinen dann nicht so klein, etwa 1,2—1,5 μ lang und 0,6—0,7 μ dick. Offenbar schlägt sich bei dieser Behandlungsweise der Farbstoff auf den äußersten verquollenen Teilen der Hülle nieder; die Hülle selbst aber mit der eingeschlossenen Zelle bleibt ungefärbt. Durch halbstündiges Erwärmen in Gentianaviolett-
45 Lösung gelingt es, die Körperchen auszufärben und nun innerhalb der farblos gebliebenen Kapsel die winzigen, schwach gefärbten Stäbchen zu unterscheiden.

Der Nitratbildner scheint keine Schwärmer zu bilden. Wenigstens ist es bis jetzt nicht gelungen, solche mit Sicherheit zu be-
50 obachten.

§ 46. Die Kohlenstoffernährung des Nitratbildners.

Ueber die Kohlenstoffernährung des Nitratmikroben sind keine besonderen Versuche so wie mit dem Nitritmikroben ausgeführt worden. Man hat ihn weder in einer zu dem Zweck bereiteten absolut reinen, d. h. von organischen Stoffen freien Nährlösung gezüchtet, noch auch einen Gewinn an brennbarem Kohlenstoff in seinen Zuchten durch die Analyse festgestellt. Doch spricht sein negatives Verhalten gegenüber organischen Nährstoffen, sowie sein Bedürfnis nach Kohlensäure entschieden dafür, daß der Nitratbildner in betreff seiner Kohlenstoffernährung sich ebenso verhält wie der Nitritbildner, nämlich daß er seinen Kohlenstoffbedarf nur aus freier, bzw. aus halbgebundener Kohlensäure decken kann.

Um dieser Frage näher zu treten, habe ich mit Omelianski (1) zunächst versucht, aus der empirisch gefundenen Zusammensetzung der Nitritnährlösung das kohlensaure Alkali wegzulassen. Da bei der Oxydation des Nitrites zu Nitrat die Reaktion der Flüssigkeit sich gar nicht ändert und also nicht, wie bei der Nitritbildung aus Ammoniak, eine Base zur Bindung der entstehenden Säure erforderlich ist, so war die Notwendigkeit des Natriumkarbonates ja in diesem Falle gar nicht einleuchtend. Doch überzeugten wir uns durch besondere Versuche, daß bei Weglassung von Soda der Prozeß sofort unmöglich wird, und zwar unabhängig davon, ob die Zuchten durch Stehen an der Luft die Kohlensäure der Atmosphäre aufnehmen können oder ob man jene durch Absperrung mit Natronlauge den Zuchten entzieht. Zusätze von 1—6 Promille von Soda (wasserfrei) zeigten sich als gleich günstig, so daß es keinen Vorteil bietet, den Sodagehalt über 1 Promille zu steigern.

Doch hat eine andere Versuchsreihe (l. c.) andererseits gezeigt, daß auch das kohlensaure Alkali allein nicht genügt, um eine Entwicklung des Organismus zu ermöglichen; denn ließ man die Kolben nach dem Sterilisieren über Natronlauge erkalten, beimpfte sie dann und stellte sie wieder in einen größeren tubulierten Exsiccator, welcher durch eine Waschflasche mit Aetznatron abgesperrt war, so unterblieb die Nitratation in den so behandelten Kolben vollständig, während sie in den an der Luft gehaltenen Kontrollkolben in 7—8 Tagen vollendet war. Nahm man jene Kolben aus dem Exsiccator heraus und ließ sie nun an der Luft stehen, so ging die Nitratation auch in diesen von statten.

Diese Beobachtungen wurden gelegentlich der Nachprüfung der Stutzer'schen Versuche auch von Gärtner (1) gemacht, welcher dasselbe Verhalten auch bei Benutzung von kohlensaurem Kalk feststellte. Man muß also daraus schließen, daß bei Anwesenheit von Monokarbonat allein, gleichviel ob löslich (Soda) oder unlöslich (Calciumkarbonat), wie auch bei Zuführung von Kohlensäure allein, keine Nitratation möglich ist, sondern daß diese erst bei Zuführung von kohlensäurehaltiger Luft und gleichzeitiger Zugabe einer kohlensauren Base vor sich gehen kann.

Weil bei der Nitratation keine Zerlegung der Karbonate stattfindet, so muß der Nitratbildner noch schärfer als der Nitritbildner auf den Mangel von Kohlensäure reagieren, was in der Tat der Fall zu sein scheint. Doch genügen auch in diesem Falle die kleinen Mengen, welche die Zuchten aus der Luft beziehen können; denn eine Beschleunigung

des Prozesses durch künstliche Zuführung von Kohlensäure war nicht zu bemerken.

Daß Kohlensäure die einzige Quelle ist, aus welcher der Nitratbildner seinen Kohlenstoffbedarf decken kann, ist höchst wahrscheinlich. So fand Gärtner (1), daß bei Anwesenheit von Glycerin anstatt Kohlensäure, unter sonst gleichen Bedingungen, keine Nitratation vor sich geht. Dafür spricht auch noch die weitere Tatsache, daß dieser Organismus jegliche Entwicklung auf den üblichen organischen Nährböden verweigert; so bleiben Fleischpepton-Gelatine und -Agar, wie auch Fleischbouillon ganz unverändert, selbst nach Beimpfung mit ungewöhnlich starken Mengen des konzentrierten Materiales aus den Nitritagarröhrchen.

§ 47. Einfluß verschiedener organischer und anorganischer Substanzen auf die Nitratation.

Ausgedehnte vergleichende Versuche von mir in Gemeinschaft mit Omelianski (1) über den Einfluß der organischen Substanzen auf die Arbeit des Nitratbildners haben gezeigt, daß diese Substanzen je nach Menge und Beschaffenheit in verschieden hohem Grade hemmend auf die Entwicklung des Mikroben und auf den Nitrationsprozeß einwirken. Die Versuche wurden so angestellt, daß man die oben angeführte Nitritnährlösung meistens mit Zusatz von Eisensalz (worüber weiter unten eine Bemerkung folgt) als Normalnährlösung benutzte, zu welcher man organische Stoffe in verschiedenen Mengen zusetzte. Dabei wurde die größte Sorgfalt geübt, um die Impfmengen so gleichmäßig als möglich zu treffen und den normalen Verlauf des Prozesses durch viele Kontrollzuchten genau zu verfolgen. Eine Zusammenstellung der wichtigsten Versuchsergebnisse bringt die nächstfolgende Tabelle, deren Zahlen ganz dieselbe Bedeutung wie auf der entsprechenden Tabelle betreffend das Nitritferment (s. oben S. 167) haben.

Glucose	0,05	0,2—0,3
Pepton	0,8	1,25
Asparagin	0,05	0,5—1,0
Glycerin	0,05	>1,0
Harnstoff	0,5	>1,0
Essigsaures Natron	1,5	3,0
Buttersaures Natron	0,5	1,0
Fleischbrühe	10	60

Ein Vergleich dieser Zahlen mit den für den Nitritbildner ermittelten zeigt sofort, daß der Nitratbildner viel weniger empfindlich ist als jener erstere, und zwar tritt dieser Unterschied besonders deutlich in dem Verhalten des einen und des anderen Organismus gegenüber stickstoffhaltigen Substanzen wie Pepton, Asparagin und Harnstoff hervor. Außerdem haben dieselben Versuche, nämlich mit Glucose, Pepton und Harnstoff, gezeigt, daß man einen Unterschied zwischen dem Einfluß dieser Substanzen auf die Entwicklung dieser Mikroben und auf deren oxydierende Tätigkeit machen muß. Wenn man z. B. mit geringen Mengen beimpfte, war der Unterschied zwischen den Kontrollzuchten und den mit Glucose und Pepton versetzten sehr auffallend: so

waren die ersteren in acht Tagen fertig, während die Glucosekolben schon von 0,2 Proz. Zusatz aufwärts dauernd nitrithaltig blieben. In den Peptonkolben brauchte der Prozeß bei einer Gabe von 0,1 Proz. nicht längere Zeit als in den Kontrollkolben; von 0,2 Proz. aufwärts wurde er hingegen fast vollständig unterdrückt. Wenn man dagegen von Anfang an auf einmal verhältnismäßig große Mengen von Impfmaterial einführte, so nitratierten die Pepton-Kolben bis zu einem Gehalte von 0,2 Proz. und darüber, wie auch die mit Harnstoff, ebenso schnell wie die Kontrollkolben. In diesem Sinne ist also der Ausfall derartiger Versuche nicht nur von der Menge und der Beschaffenheit der organischen Stoffe sondern auch von der Menge der eingeimpften Organismen abhängig.

Ein weiterer Umstand verdient noch unsere Aufmerksamkeit, das ist das *Anpassungsvermögen*. Kultiviert man nämlich den Organismus in Nitritnährlösung unter Zusatz von Bouillon, so reagiert er anfangs durch eine Verlangsamung der Entwicklung schon auf einen Zusatz von etwa 15 Proz. Bouillon. Läßt man ihn in dieser Lösung wachsen und überträgt ihn dann in immer höhere Konzentrationen, so kann er allmählich dazu gebracht werden, in 50-proz. Bouillon zu gedeihen.

Bei diesen Versuchen hat man schließlich darauf geachtet, ob der Nitratbildner in einer mit organischen Substanzen versetzten Nitrit-Nährlösung sich entwickeln könne, ohne seine Vermehrung durch den Nitratationsprozeß kundzugeben, oder mit anderen Worten, ob seine gewöhnliche Aufgabe, Nitrite zu oxydieren, bei Anwesenheit von organischen Nährstoffen soweit abgeändert werden könne, daß er sich diesen Substanzen zuwendet und auf deren Kosten wächst, wobei er die Nitrite unberührt läßt. Angesichts derartiger Angaben, namentlich von seiten Stutzer's und seiner Mitarbeiter, hat man dieser Frage besondere Aufmerksamkeit gewidmet, hat sich jedoch davon überzeugt, daß in den mit einer Reinzucht beimpften Nitritlösungen, in denen der Nitratationsprozeß durch Zusatz von organischen Substanzen unterdrückt wird, auch gar keine Vermehrung des Nitratbildners stattfindet: die mikroskopische Untersuchung läßt darin keine Spur einer Bakterienvegetation entdecken.

Was die *Wirkung der anorganischen Substanzen* betrifft, so verdienen in erster Linie wieder die Verbindungen, die in nitrifizierenden Medien gewöhnlich zugegen sind, unsere Beachtung, also Ammoniak, Nitrite und Nitrate.

Höchst bemerkenswert ist *der schädliche Einfluß von Ammon auf den Nitratbildner*. Es war Warington (1, 3), der als erster diese Eigenschaft vermutete, ohne daß ihm aber genauere Versuche mit Reinzuchten zur Verfügung gestanden hätten. Auf diese Eigentümlichkeit sind wir (l. c.) in unseren Versuchen über *die Wirkung von Urin* auf diesen Organismus gestoßen. Er zeigte sich nämlich außerordentlich empfindlich gegenüber sehr kleinen Zusätzen von Urin: 0,25 Proz. genügte, um die Nitratation bis um 10 Tage zu verzögern, 0,5 Proz. um 13 Tage, 1,0 Proz. um 38 Tage, 2 Proz. um 88 Tage. Da weder der Harnstoff noch die Harnsäure im entferntesten eine solch starke Wirkung ausüben, wie man sich durch direkte Versuche überzeugt hatte, so wurde auch das im Harne stets vorhandene Ammoniak in dieser Hinsicht geprüft, und es zeigte sich in der Tat, daß schon ganz geringe Mengen davon genügen, um die Nitratation stark zu hemmen, bzw. ganz zu unterdrücken. So dauerte der Prozeß in einer Reihe von Versuchen

im Kontrollkolben einerseits und in den mit Ammoniumsulfat versetzten andererseits, wie folgt:

Kontrolle (ohne Ammoniak)	12 Tage
mit 0,000514 Proz. NH_3	17 „
„ 0,00257 „ „	24 „
„ 0,004112 „ „	27 „
„ 0,00514 „ „	28 „
„ 0,00771 „ „	31 „
„ 0,01028 „ „	33 „
„ 0,01542 „ „	Nitritreaktion dauernd erhalten.

Wie man sieht, übertrifft das Ammoniak in seinem entwicklungshemmenden Einfluß auf den Nitratbildner die kräftigsten Antiseptika; denn bei 0,005 g pro Liter gibt sich schon eine Verzögerung und bei 0,154 g pro Liter ein vollständiges Stillstehen der Entwicklung kund.

Es ist interessant, daß Boullanger und Massol (1), welche mit Mikroben anderer Herkunft gearbeitet haben, den unserigen sehr nahe kommende Zahlen ermittelt haben. Ihr Versuch ist insofern genauer, als sie sich nicht mit der Feststellung der Nitritreaktion begnügt, sondern jedesmal die Menge der übriggebliebenen Nitrite quantitativ bestimmt haben. Es ergab sich ebenfalls, daß, beginnend bei einem Zusatz von 0,005 g NH_3 pro Liter, der Verlauf der Nitratation immer schleppender wird, bis die Verspätung bei 0,082 g pro Liter 45 Tage erreicht; noch höher hinauf waren die Zuchten selbst nach 2 Monaten noch stark nitrithaltig. Die Bestimmung des verbliebenen Nitrites darin hat nun gezeigt, daß in der Zucht mit 0,123 g pro Liter ca. 50 Proz., in der mit 0,164 g pro Liter nur 20 Proz. der zu Anfang vorhandenen Nitritmenge oxydiert worden war, während höher hinauf überhaupt keine merkliche Nitratation mehr stattfand. Die genannten Autoren meinen zwar, daß der Nitratbildner auch bei viel höheren Ammongaben überall gewirkt hat, doch ist offenbar der ca. 10 Proz. betragende, in allen Kolben (von 0,257 g bis 2,040 g NH_3 pro Liter) gleiche Nitritverlust auf Kosten einer spontanen Zersetzung von Ammoniumnitrit in ammonreichen Lösungen zu setzen.

Was den Einfluß der Nitritmenge auf den Gang der Nitratation betrifft, so haben Versuche von Boullanger und Massol gezeigt, daß bei einem Gehalte von 1 g $NaNO_2$ pro Liter die Nitratation am schnellsten vor sich geht. Bei 2 Promille dauerte der Prozeß 4 Tage länger, bei 5 Promille 20, bei 10 Promille 71 Tage länger. Lösungen mit 2 und mit 10 Proz. Natriumnitrit haben so gut wie keine Nitratation erfahren. Es werden also vom Nitratbildner nur Konzentrationen unter 20 Promille $NaNO_2$ ertragen.

Von Nitraten sind bedeutend höhere Mengen ohne schädigenden Einfluß. So haben Versuche derselben zwei Forscher ergeben, daß die Nitratation, wenn man Nitrite nach und nach zusetzt, noch bei einem Gehalte von 20 Promille $NaNO_3$ kräftig vor sich geht; erst bei 25 Promille steht sie plötzlich stille. Auch wenn Nitrate gleich zu Beginn bei der Beimpfung zugegen sind, üben sie erst bei einem Gehalte von mehr als 10 Promille eine schädliche Wirkung aus; und zwar unterscheiden sich in dieser Hinsicht die verschiedenen Nitrate, wie

Kalium-, Natrium-, Calcium- und Magnesiumnitrat, sehr wenig voneinander.

Gegen Salze von Schwermetallen und anderen als giftig bekannten Metallen ist auch der Nitratbildner wenig empfindlich. So werden nach BOULLANGER und MASSOL die Nitrite von Baryum, Zink, Blei, Mangan und Kupfer in einer Gabe von 0,5—1 g pro Liter gut nitratiert.

Eisensalze begünstigen den Prozeß, und zwar in einer Gabe von 0,4 Promille des schwefelsauren Eisenoxydules am deutlichsten, was uns bewog, dieses Salz in unsere Nitritnährlösung einzuführen.

Zur Vervollständigung der Kennzeichnung der Oxydationstätigkeit des Nitratbildners fügen wir noch die Bemerkung an, daß diese eine ganz spezifische, bloß auf Nitrite beschränkte ist. Weder auf Ammoniak hat der Organismus eine Wirkung, noch auch können die Nitrite durch schweflige oder phosphorige Salze ersetzt werden, wie Versuche von OMELIANSKI (5) gezeigt haben.

§ 48. Der natürliche Nitrifikationsvorgang.

Wenn wir von dem Nitrifikationsversuch im Laboratorium zu dem Vorgang in der Natur übergehen, wie er im großen Maßstabe in den Salpeterplantagen, im Boden und in den biologischen Kläranlagen für die Abwässerreinigung sich abspielt, so können wir wesentliche Unterschiede zwischen den beiden wahrnehmen. Wir haben gesehen, daß die Wirkung der Mikroben in Reinzucht erstens eng begrenzt und zweitens an ganz bestimmte Bedingungen gebunden ist. So erstreckt sich die Wirkung des Nitritbildners einzig und allein auf das Ammoniak, diejenige des Nitratbildners auf die Nitrite; beide haben gar keine Wirkung auf den Stickstoff in irgend einer anderen Form. Beide finden ihre beste Entfaltung in einem rein mineralischen Nährboden und werden durch die Anwesenheit organischer Substanzen gelähmt, in welcher Hinsicht der Nitritbildner sich als besonders empfindlich erweist, weniger der Nitratbildner, doch wird dieser dafür schon durch geringe Mengen von Ammoniak gelähmt. Lassen wir beide Organismen vereint auf Ammoniak einwirken, so wird dieses zuerst ganz in Nitrit umgewandelt, und dann erst beginnt die Oxydation des Nitrites zu Nitrat.

Wesentlich andere Merkmale bietet uns der rohe Nitrifikationsvorgang dar.

Es ist eine alte Erfahrung der Praxis, welche seit BOUSSINGAULT auch wissenschaftlich feststeht, daß die Nitrifikation im Boden gerade auf Kosten jeder Art von organischen Abfällen sich abspielt; diese sind es, welche das Material für die Salpeterbildung liefern, wobei die Entstehung von Ammoniak deutlich als ein Zwischenprozeß zu bemerken ist. Als Produkt der Nitrifikation kennt der Agrikulturchemiker nur das Nitrat, und obwohl man eine vorübergehende Nitritbildung hier und da beobachtete, so wurde sie als eine unwesentliche und eher abnorme Erscheinung angesehen. Wie fest diese Ansicht eingewurzelt war, und welche Mühe die Forscher bei der neuesten Wendung in dem Studium der Nitrifikation hatten, ihr zu entsagen, haben wir oben zur Genüge geschildert. Im ganzen wurde also der natürliche Nitrifikationsvorgang als Umwandlung von organischem Stickstoff in Salpeter, mit Ammoniakbildung als Zwischenprozeß, aufgefaßt.

Daß die uns bekannten Nitrifikationsmikroben allein nicht für diesen Prozeß verantwortlich gemacht werden können, bedarf jetzt keiner weiteren Erörterung. Aber noch mehr als das: wir sehen uns jetzt vor die Aufgabe gestellt, die Eigenschaften der spezifischen Nitrifikationserreger und der von ihnen verursachten reinen Prozesse mit den Bedingungen und Merkmalen des natürlichen Prozesses in Einklang zu bringen. Denn einerseits sind in den natürlichen nitrifizierenden Unterlagen immer organische Substanzen vorhanden, welche insbesondere die Wirkung des Nitritbildners unterdrücken; andererseits ist auch immer Ammoniak zugegen, welches die Tätigkeit des Nitratbakteriums lähmt. Trotzdem spielt sich der Vorgang recht kräftig ab, wobei er noch durch das wichtige Merkmal sich auszeichnet, daß meistens aus Ammoniak anscheinend unmittelbar Nitrate hervorgehen.

Daß die Nitrifikation von organischem Stickstoff ein zusammengesetzter mikrobiologischer Prozeß ist, an welchem viele Bodenorganismen sich beteiligen müssen, war nach der Erforschung der Eigenschaften der Nitrifikationsbakterien vorauszusehen. Doch bot es Interesse, diesen Satz experimentell zu begründen und eine Synthese der bei dem Prozesse tätigen Arten zu versuchen, was Omelianski (1) ohne Schwierigkeit gelungen ist. In seinen Versuchen wandte er verschiedene Kombinationen eines in der Erde weitverbreiteten Bodenbakteriums, nämlich des *Bacillus ramosus*, mit den Nitrifikationsbakterien zur Beimpfung von mit Wasser verdünnter 20-proz. und 50-proz. Bouillon an, welche man außerdem mit einem Ueberschuß von Gips versetzte, um das entstehende Ammoniumkarbonat in Sulfat umzuwandeln und so eine zu große Alkalinität der Flüssigkeit zu verhüten. Diese Versuche lieferten nachfolgende Ergebnisse: 1. Bei der Kombination *Bac. ramosus* + Nitritbildner + Nitratbildner war eine starke Ammoniakreaktion schon nach 3–4 Tagen bemerkbar; nach 7 Tagen wurde in verdünnter Bouillon, erst nach 20 in konzentrierterer, eine Nitritreaktion festgestellt. Einen Monat später war das Nitrit zu Nitrat oxydiert. 2. Die Kombination *Bac. ramosus* + Nitritbildner lieferte das gleiche Ergebnis in betreff des Auftretens von Ammoniak und von Nitrit; jedoch blieb die Nitritreaktion dauernd unverändert. 3. Durch die Kombination *Bac. ramosus* + Nitratbildner entstand eine starke Ammoniakreaktion, welche dauernd unverändert blieb; es bildeten sich weder Nitrite noch Nitrate. 4. Endlich bei der Kombination Nitritbildner + Nitratbildner zeigte sich während 10 Monate keine Spur von Ammoniak und ebenso keine Spur von Nitrit oder von Nitrat.

Derartige Versuche, welche leicht zu wiederholen sind und stets scharfe Resultate geben, lassen keinen Zweifel darüber bestehen, daß es der Mitwirkung wenigstens einer die organische Substanz zersetzenden und Ammoniak abspaltenden Bakterienart bedarf, um den ursprünglich in organischer Bindung vorhandenen Stickstoff des Substrates der Einwirkung der Nitrifikationsbakterien zugänglich zu machen.

Auf die Frage, warum diese drei Prozesse, Ammoniakbildung, Nitritation und Nitratation, bei gemeinsamer Anwesenheit ihrer zugehörigen Erreger im Substrate nicht Hand in Hand gehen, sondern immer in derselben Reihenfolge nacheinander sich abspielen, gibt uns die Physiologie der Nitrifikationsbakterien eine bestimmte Antwort. Es ist einerseits die Abneigung des Nitritbildners gegen organische Stoffe, andererseits die des Nitratbildners gegen Ammoniak, welche hier

regulierend eingreifen. Solange die organischen Stoffe nicht bis auf ein erträgliches Geringstmaß hinabgedrückt und in einfachere Verbindungen gespalten sind, solange kann der Nitritbildner, trotz Reichtum an Ammon, nicht aufkommen. Ist nun der Nitritbildner imstande, die Ammoniakoxydation zu beginnen, so muß der Nitratbildner, trotz Vorhandensein von Nitrit noch untätig bleiben, weil er durch das vorhandene Ammon noch gelähmt wird. Erst wenn das Ammoniak fertig nitritiert ist, kann nun die dritte Stufe des natürlichen Prozesses, die Nitratation sich geltend machen.

Wie wichtig diese Einrichtung ist, namentlich das Verschieben der Nitrifikation auf eine erst nach dem Abbau der organischen Stoffe einsetzende Periode, wird leicht zu verstehen sein, wenn wir der **Denitrifikationsbakterien** gedenken, deren es so viele weitverbreitete Arten gibt. Wir wissen, daß diese Bakterien schnell und leicht den Salpeter unter Entwicklung von freiem Stickstoff zerlegen, und daß dies nur bei Gegenwart organischer Substanz geschieht, auf deren Kosten sie sich entwickeln. Wenn nun der Salpeterbildungsprozeß noch vor dem Aufbrauch der organischen Substanz begänne, würde höchst wahrscheinlich der Salpeter gleich nach seinem Entstehen wieder unter Entwicklung von freiem Stickstoff verloren gehen. Wenn diese wichtige Verbindung sich im Boden anhäuft, so verdanken wir es gerade der Eigenschaft der Nitrifikationsbakterien, bei Anwesenheit von organischen Substanzen untätig zu sein und erst dann sich ans Werk zu machen, wenn die Denitrifikatoren durch Mangel an zersetzbarer organischer Substanz zur Untätigkeit verdammt sind.

Wir haben oben erwähnt, daß der natürliche Nitrifikationsprozeß sich dadurch auszeichnet, daß wir meistens keine Zwischenbildung von Nitriten beobachten, sondern anscheinend eine unmittelbare Umwandlung des Ammoniaks in Nitrat. Freilich kann man in besonderen Fällen, wie wir das schon erwähnt haben, auch hier eine vorangehende Nitritbildung beobachten. Doch ist es, namentlich im Boden, die Regel, daß die Nitrifikation als einheitlicher Prozeß auftritt. Zu einer Zeit, zu welcher die Wirksamkeit der beiden Gruppen von Nitrifikationsbakterien noch nicht mit Sicherheit bestimmt war, habe ich (5) es nicht unterlassen, mich zu überzeugen, daß sie auch im Boden ihre betreffende Tätigkeit entfalten. Wenn ich nämlich sterilisierte Erde mit dem Nitritbildner beimpfte, erhielt ich nur Nitrite; beimpfte ich mit beiden Nitrobakterien, so wurden Nitrite und Nitrate in wechselnden Mengen festgestellt; normale unsterilisierte Erde gab immer nur Nitrate allein. Es müssen also in der Erde Bedingungen herrschen, welche eine **gemeinschaftliche Wirksamkeit**, oder, wie man sich gerne ausdrückt, eine **Symbiose beider Mikroben** erlauben. Damit jedoch diese möglich werde, darf die Tätigkeit des Nitratbildners durch das vorhandene Ammoniak im Boden nicht beeinträchtigt werden. Weil die Ammoniakverbindungen vom Boden absorbiert und zurückgehalten werden, so war es denkbar, daß das Ammoniak in einen besonderen, für den Nitratbildner unschädlichen Zustand übergeht. Das war die Erklärung, die namentlich WARINGTON aufzustellen versuchte. Doch hat man ein ähnliches Verhalten auch in den biologischen Kläranlagen beobachtet; auch in reinen wässerigen Ammoniak-Lösungen, namentlich in sehr verdünnten, wird die Nitritbildung, wie das WARINGTON selbst beobachtet hat, manchmal unmerklich gering. Auch ich (5) habe Versuche mit gemischten Zuchten in Lösungen beobachtet, in welchen nach Zusatz von Ammoniak Nitratbildung

anscheinend unmittelbar auftrat. Folglich sind irgend welche spezifische, dem Boden eigene Verhältnisse für diesen Gang des Prozesses kaum verantwortlich zu machen. Die Frage blieb unklar, bis BOULLANGER und MASSOL (1) vor kurzem die Bedingungen studierten, welche eine gemeinschaftliche Tätigkeit oder eine Symbiose der beiden Mikroben erlauben. Sie bestätigten zunächst durch täglich wiederholte quantitative Bestimmungen unsere Beobachtung, daß in der gewöhnlichen Ammoniaklösung bei gleichzeitiger Einimpfung beider Organismen eine streng stufenweise verlaufende Wirkung beobachtet wird: der Nitratbildner beginnt erst dann seine Arbeit, wenn der Ammoniakgehalt fast auf Null hinabgesunken ist, und zwar geschieht dies auch in dem Falle, wenn man durch besonders ergiebige Lüftung (Gebrauch von Schlacken) die Prozesse beschleunigt. Doch ändert sich die Sachlage, wenn man folgenden Kunstgriff anwendet: man läßt eine am besten mit Schlacken versetzte und mit beiden Gärerregern beimpfte Zucht ihre Nitritation und hierauf auch die Nitratation vollenden, entfernt dann aseptisch die Flüssigkeit und gießt gleich viel frische nach. Die Oxydationsarbeit beginnt von neuem wieder, aber mit dem Unterschied, daß von Anfang an die Nitritbildung unmerklich wird, bzw. die Reaktion nur in Spuren auftritt, und das trotzdem, daß die Lösung bis zu 2 g Ammoniumsulfat pro Liter enthält. Auch wenn man zur nitratierten Lösung frische Gaben von Ammon zufügt, wird die Neigung zu symbiotischer Wirkung bemerkt. Ebenso, wenn man bei der Impfung besonders reiche Mengen beider Mikroben einführt. Läßt man auch eine verhältnismäßig große Menge von Nitrit, etwa 2 g, nitratieren, setzt dann eine frische Menge Nitrit und dann wachsende Mengen von Ammoniak zu, so merkt man, daß in diesem Falle das Ammoniak keine so hervorragend lähmende Wirkung besitzt: erst bei 0,110 g pro Liter tritt dann eine hemmende Wirkung, aber auch bei 1,37 g und 1,8 g pro Liter wird die Arbeit des Erregers noch nicht eingestellt. Kurz, in allen Fällen, in denen man Ammoniak einem Nährboden zusetzt, in welchem bereits eine reiche Vermehrung des Nitratbildners stattgefunden hat, wird der Prozeß der Oxydation des Nitrits nicht mehr so leicht gehemmt. Woraus der interessante Schluß hervorgeht, daß das Ammoniak besonders schädlich auf die Entwicklung des Nitratbildners einwirkt, unvergleichlich schwächer aber auf die oxydierende Tätigkeit der fertigen Zellen.

Dieses Resultat steht sehr gut in Einklang mit den Beobachtungen über die Arbeit der Abwässerreinigungsanlagen. So hat man bemerkt, daß in den frisch in Gang gesetzten Oxydationsbassins am Anfange immer reichlich Nitrite auftreten, später aber wenn die Schlacken- oder Koksmassen sich gut „eingearbeitet" haben, Nitritbildung nicht mehr beobachtet wird. Es ist klar, daß die Entwicklung des Nitratbildners infolge des Ammoniakgehaltes der Abwässer anfangs langsam vor sich gehen muß. Doch ist dieser Ammoniakgehalt nicht so hoch, oder wenigstens nicht ununterbrochen so hoch, daß er die Vermehrung des Nitratbildners gänzlich zu unterdrücken vermöchte, und wenn schließlich seine Vermehrung eine gewisse Höhe erreicht hat, nimmt der Prozeß sofort den symbiotischen Charakter an. Da der Boden ein Mittel ist, welches während vieler Jahrtausende der Sitz einer mehr oder weniger kräftigen Nitrifikation gewesen ist, so findet der Charakter des in ihm verlaufenden Nitrifikationsprozesses in den obigen Ausführungen auch eine ungezwungene Erklärung.

Literatur

zum Kapitel Die Nitrifikation.

*Adametz, L., (1) Untersuchungen über die niederen Pilze der Ackerkrume. Dissert., Leipzig 1886. *Baumann, Anton, (1) Landw. Versuchsstationen, 1888, Bd. 35, S. 217. *Beijerinck, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 19, S. 258. *Boullanger und Massol, (1) Ann. Pasteur, 1903, Bd. 17, S. 492; 1904, Bd. 18, S. 181. *Boussingault, J. B., (1) Agronomie. Chimie agricole et Physiologie, Bd. I—VI. Paris. 1860—1878. — (2) Sur la nitrification de la terre végétale; ebenda, 1874, Bd. V, S. 311. — (3) Influence de la terre végétale sur la nitrification des matières organiques azotées, employées comme engrais; ebenda, 1878, Bd. VI, S. 191. *Celli, A., und Marino-Zuco, F., (1) Atti della R. Accad. dei Lincei, Roma, 1885—1886, 4. Reihe, Rendiconti, Bd. 2, S. 519. *Degener, P., (1) Zeitschrift f. d. Rübenzuckerindustrie d. Deutschen Reiches, 1882, S. 64. *Demoussy, E., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1898, Bd. 126, S. 253. *Elfving, F., (1) Studien ü. d. Einwirkung d. Lichtes auf d. Pilze. Helsingfors 1890. *Fraenkel, C., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 8. *Frank, A. B., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1886, Bd. 4, S. 108. — (2) Deutsche landw. Presse, 1887, Bd. 14, Nr. 104; Landw. Jahrbücher, 1887, Bd. 16. *Frankland, P. u. G., (1) Z. f. Hyg., 1889, Bd. 6, S. 373. — (2) Proceedings Roy. Society, 1890, Bd. 47. — (3) Phil. Transactions, 1890, Bd. 181 B, S. 107. *Gärtner, A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 1. *Godlewski, E., (1) Anzeiger d. Akademie d. Wiss. in Krakau, 1892, S. 408; 1895, S. 178. *Heraeus, W., (1) Z. f. Hyg., 1886, Bd. 1, S. 193. *Herzfeld, A., (1) Zeitschr. d. Vereins f. d. Rübenzuckerindustrie d. D. Reichs, 1886, S. 754 u. Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1886, Bd. 19, S. 2618. *Instruction sur l'établissement des nitrières; publiée par les Régisseurs généraux des poudres et salpêtre. Paris 1777. *Landolt, H., (1) Deutsche landw. Presse, 1888, Bd. 15, S. 185. *Liebig, J. von, (1) Die Chemie in ihrer Anwendung auf Agrikultur und Physiologie. Braunschweig 1865. *Migula, W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 365. *Müller, Alexander, (1) Landw. Versuchsstationen, 1873, Bd. 16, S. 241. *Müntz, A., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1891, Bd. 112, S. 1142. *Mulder, G. J., (1) Die Chemie der Ackerkrume. Deutsch von Joh. Müller, Berlin 1861. *Munro, J. H. M., (1) Journal Chemical Society, 1886, Bd. 49, S. 632. *Omelianski, W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 473. — (2) Ebenda, S. 537. — (3) Ebenda, S. 652. — (4) Ebenda, 1902, Bd. 8, S. 785. — (5) Ebenda, 1902, Bd. 9, S. 63. — (6) Ebenda, S. 113. *Pasteur, L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1862, Bd. 54, S. 265. *Plath, H., (1) Landw. Jahrbücher, 1887, Bd. 16, S. 891. *Sachsse, R., (1) Lehrbuch der Agrikulturchemie, Leipzig 1888. *Schloesing, Th., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1873, Bd. 77, S. 203 u. 353. *Schloesing, Th., und Müntz, A., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1877, Bd. 84, S. 301 u. Bd. 85, S. 1018; 1878, Bd. 86, S. 892; 1879, Bd. 89, S. 891 u. 1074. *Warington, R., (1) Journal Chem. Society, 1878, Bd. 33, S. 44; 1879, Bd. 35, S. 429; 1884, Bd. 45, S. 637. — (2) Ebenda, 1888, Bd. 53, S. 727. — (3) Proceedings of the Chem. Soc., 1891, S. 92; Journal Chem. Society, 1891, S. 484. *Winogradsky, S., (1) Ann. Pasteur, 1890, Bd. 4, S. 213. — (2) Ebenda, S. 257. — (3) Ebenda, S. 760. — (4) Ebenda, 1891, Bd. 5, S. 92. — (5) Ebenda, S. 577. — (6) Vierteljahrsschrift d. Naturforsch. Ges. in Zürich, 1891, Bd. 36, S. 176. — (7) Comptes rend. de l'Ac., 1891, Bd. 113, S. 89. — (8) Archives des Sciences biologiques publ. p. l'Inst. Imp. de Médecine exp. à St. Pétersbourg, 1892, Bd. 1, S. 87. — (9) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 415. *Winogradsky, S., und Omelianski, W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 329.

(Manuskript-Einlauf: 20. April 1904.)

6. Kapitel.

Denitrifikation und Stickstoffentbindung.

Von Mag. scient. HJALMAR JENSEN
in Buitenzorg auf Java.

§ 49. Die Reduktion von Nitraten zu Nitriten und Ammoniak.

Die Bildung des für die höheren Pflanzen so notwendigen Salpeters durch Mikroorganismen spielt sich, wie in den vorhergehenden Kapiteln dargelegt worden ist, schrittweise ab. Ausgehend entweder von freiem Stickstoff oder von organischen Stickstoffverbindungen, kommt es zunächst zur Bildung von Ammoniak, dann von Nitriten und schließlich von Nitraten. Aber auch in umgekehrter Folge können die Stickstoffverbindungen umgesetzt werden; die sauerstoffreicheren können zu sauerstoffärmeren reduziert werden, ja es kann bis zum vollständigen Freiwerden des Stickstoffes kommen, oder die anorganischen können in organische überführt werden. In allen solchen Fällen liegt also eine Wertverminderung vor; die für die höheren Pflanzen gut assimilierbaren Verbindungen werden in schlecht oder gar nicht brauchbare verwandelt. Solche Umbildungen geschehen größtenteils durch die Wirksamkeit von Mikroorganismen, aber doch auch auf andere Weise, die hier bloß angedeutet werden soll. Außer durch rein chemische Umsetzungen, so z. B. durch Einwirkung von salpetriger Säure auf Ammonsalze (MARPMANN [1]), kann nach LAURENT (2) der Salpeter durch verschiedene lebende Pflanzenteile, z. B. keimende Samen und Knollen, junge Früchte etc., reduziert werden, und nach LUTZ (1) sollen sogar sterile Sandkulturen von Phanerogamen unter gewissen Umständen freien Stickstoff entbinden können. Auch hat LAURENT (3) gezeigt, daß das Sonnenlicht die Nitrate zu Nitriten zu reduzieren vermag. In diesem Paragraphen hier sollen jedoch nur die durch Mikroorganismen hervorgerufenen Umsetzungen behandelt werden. Diese sind in der Natur mit ihren sehr oft so komplizierten Verhältnissen selbst häufig sehr verwickelte Vorgänge. Zunächst werden wir versuchen, die verschiedenen einzelnen Vorgänge auseinanderzuhalten, am besten wie folgt:

1. Reduktion von Nitraten zu Nitriten und Ammoniak (Salpeterreduktion).

2. Reduktion von Nitraten und Nitriten zu niederigeren, gasförmigen Stickstoff-Sauerstoffverbindungen (N_2O und NO).

3. Reduktion von Nitraten und Nitriten unter Abspaltung elementaren Stickstoffes (Denitrifikation im engeren und eigentlichen Sinne).

4. Umbildung des Salpeterstickstoffes in organische Verbindungen (Salpeterassimilation).

5. Freiwerden von Stickstoff bei der Fäulnis organischer Stickstoffverbindungen.

Es scheint eine große Menge von Mikroorganismen zu geben, welche imstande sind, Nitrate zu Nitrit, ja selbst zu Ammoniak zu reduzieren, jedoch ohne dabei freien Stickstoff abspalten zu können. Inwieweit

eine solche Reduktion zu dem Zwecke vollzogen wird, um die Bakterien mit Sauerstoff für die Atmung zu versehen, müssen zukünftige Untersuchungen lehren. Diese Annahme hat jedoch viel Wahrscheinlichkeit für sich, weil die eigentliche Denitrifikation, die sicher als ein Atmungsprozeß aufgefaßt werden muß, immer mit einer ähnlichen Reduktion des Salpeters in Nitrit anfängt. Ob die Ammoniakbildung immer wie die Nitritbildung von der Wirksamkeit der salpeterreduzierenden Bakterien herrührt oder vielleicht von einer Umsetzung der vorhandenen Peptone und anderer organischer Stickstoffverbindungen, ist nach G. und P. Frankland (1) zweifelhaft; jedoch wird sie von den meisten Forschern als Ergebnis der Reduktion des Salpeters aufgefaßt.

Schon im Jahre 1862 hat Goppelsröder (1) eine Reduktion von Nitraten zu Nitriten in der Ackererde beobachtet. Er schreibt dies aber den „desoxydierenden" Eigenschaften der Humussubstanzen zu. Erst Meusel (1) hat die bakterielle Verursachung der Salpeterreduktion erkannt, indem er gefunden hat, daß diese Wirksamkeit hervorgerufen wird durch: „les animalcules, connus sous le nom de bactéries, que je pus observer au microscope". Auch konnte er die Reduktion durch Zusatz von Antisepticis verhindern. Später ist mit mehr modernen bakteriologischen Methoden von verschiedenen Forschern eine große Reihe von salpeterreduzierenden Bakterien reingezüchtet worden. Gayon und Dupetit (2) haben im Jahre 1882 diese Eigenschaft bei den Bakterien der Hühnercholera, des Milzbrandes und des malignen Oedems festgestellt, sowie bei vier, nur mit a, b, c und d bezeichneten, reingezüchteten Bakterienarten. Im Jahre 1886 haben dieselben Forscher (3) angegeben, daß die meisten Bakterien diese Eigenschaft besitzen; eine Bakterie haben sie gefunden, die allen Salpeter einer 1-proz. Lösung reduzieren konnte. Springer (1) fand im Jahre 1883 eine Zerlegung des Salpeters in ausgepreßtem Saft von Tabakpflanzen. Heraeus (1) beobachtete im Jahre 1886 Reduktion von Salpeter zu Nitrit und auch zu Ammoniak bei *Microc. prodigiosus*, *Staphylococcus citreus*, *Bac. typhi*, *Bac. anthracis* und einigen anderen, nicht näher bestimmten Arten. G. und P. Frankland (1) fanden im Jahre 1889 Nitritbildung durch einige Wasser- und Bodenbakterien, wie z. B. durch *Bac. aquatilis*, *B. ramosus*, *B. vermicularis* und mehrere andere, und waren der Ansicht, daß diese Reduktionsfähigkeit als brauchbares Kennmerkmal benutzt werden könne. So wird *Bac. cereus* von dem ihm sehr ähnlichen *Bac. subtilis* auf diese Weise unterschieden. Während der erste auf Nitrate, unter Bildung großer Mengen von Nitrit, stark reduzierend wirkt, übt der *Bac. subtilis* auf die Nitrate nicht den geringsten Einfluß aus. Vielleicht haben dann Fichtenholz (1) u. a., die eine Reduktion bei *Bac. subtilis* angeben, eben eine dieser letzteren ähnliche Art, wie *Bac. cereus*, vor sich gehabt. Jene beiden Forscher haben auch quantitative Versuche veröffentlicht, aus denen hervorgeht, daß freier Stickstoff nicht abgespalten worden ist; die Differenzen zwischen der ursprünglichen und der nach dem Versuche wieder gefundenen Stickstoffmenge, die sowohl positiv als negativ sind, liegen wahrscheinlich innerhalb der analytischen Fehlergrenzen. Ohne nähere Bezeichnung gibt P. Frankland (1) an, daß er unter 32 untersuchten Bakterienspezies 16 oder 17 reduzierende gefunden habe. Auch Warington (1) hat diese Reduktion bei verschiedenen Bakterien (18 von 25 untersuchten Arten) gefunden, darunter bei *B. fluorescens non liquefaciens*, *Microc. ureae*, *Staphylococcus candidus*, den Bakterien der Schweineseuche, des Typhus, der Cholera, der Kinder-

diarrhöe und der Septikämie u. a. Später sind noch andere Forscher mit der Untersuchung des Reduktionsvermögens verschiedener Bakterienarten beschäftigt gewesen, so RUBNER (1), JORDAN und RICHARDS (1), DIEUDONNÉ (1), der eine starke Reduktion bei *B. coli commune* gefunden 5 hat, und MAASSEN (1), der unter 109 untersuchten Organismen nicht weniger als 85 Nitritbildner nachweisen konnte.

Was das Reduktionsvermögen anderer Mikroorganismen als Bakterien betrifft, hat LAURENT (1) nachgewiesen, daß ein solches bei *Saccharomyces*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium glaucum*, *Alternaria tenuis* und *Mucor* 10 *racemosus* vorhanden ist.

Nach allem, was vorliegt, können wir mit Sicherheit sagen, daß diese Reduktion von Nitrat zu Nitrit und Ammoniak eine sehr allgemeine Eigenschaft bei den Mikroorganismen ist. Dagegen wäre eine nähere Untersuchung über den Einfluß der äußeren Bedingungen, vor allem der 15 Anwesenheit oder Abwesenheit des Sauerstoffes und über die physiologische Bedeutung der Reduktion sehr erwünscht. Auch wäre zu untersuchen, inwieweit die nun zu betrachtenden Reduktionsprozesse, welche sich durch Abspaltung gasförmiger Stickstoff-Sauerstoffverbindungen von jenen ersteren unterscheiden, durch die gleichen Bakterien, welche Nitrat 20 zu Nitrit reduzieren, dann hervorgerufen werden können, wenn man die Bedingungen, z. B. die Zusammensetzung des Nährbodens, ändert. Derzeit hat es nach den vorliegenden Untersuchungen den Anschein, als ob diese zwei Arten von Reduktionen durch verschiedene Organismen durchgeführt würden. Aus diesem Grunde werden sie hier getrennt von-25 einander behandelt.

§ 50. Die Reduktion von Nitraten und Nitriten zu Stickoxyd und Stickstoffoxydul.

Die ältesten Angaben über eine Reduktion des Salpeters unter Bildung von gasförmigen Stickstoff-Sauerstoffverbindungen betreffen die 30 Salpetersäuregärung der Zuckerrübenmelasse. DUBRUNFAUT (1), der schon im Jahre 1836 diese (zuerst von TILLOY erwähnte) Erscheinung untersucht hat, erklärt sie damit, daß in der Melasse zuerst Milchsäuregärung auftritt und daß durch den Einfluß der gebildeten Milchsäure auf den Salpeter dann Stickoxyd abgespalten werde; wenn dieses Gas 35 mit der Atmosphäre in Berührung kommt, oxydiert es sich zu Stickstoffdioxyd, welches sich so durch seine rotbraunen Dämpfe über der Melasse bemerklich macht. REISET (2) dagegen erklärt die Bildung der Dämpfe von Stickstoffdioxyd als das Ergebnis einer Ammoniakoxydation. Durch Aufkochen mit Schwefelsäure wird die Bildung dieses Gases verhindert, 40 indem, nach der Erklärung von REISET, das Ammoniak nur dann angegriffen werden kann, wenn es an eine schwache Säure gebunden ist. In der Wirklichkeit liegt natürlich eine bakterielle Reduktion von Salpeter vor, der im Zellsaft der Zuckerrüben manchmal in ziemlich großer Menge auftreten kann.

45 Eine ähnliche Reduktion von Salpeter ist von SCHLOESING (1) im Jahre 1868 bei Tabaksauce, bei Urin mit Zusatz von Salpeter und bei einem Gemisch von Zuckerwasser, Käse und Salpeter beobachtet worden. Viel später, im Jahre 1887, hat TACKE (1) in Versuchen mit Erde, zu welcher Zucker und Salpeter zugefügt worden war, eine Entwicklung 50 von Stickoxyd und Stickstoffdioxyd gefunden. Aus den Ergebnissen des

einen Versuches (Nr. 12) scheint beinahe hervorzugehen, daß diese zwei Gase Uebergangsformen zur Abspaltung von freiem Stickstoff sind. Die Zahlen sind nämlich die folgenden:

Zusammensetzung des Gases nach Tagen:		CO_2	NO	N_2O	N
	21	56,81	0,65	38,13	4,41
	29	39,44	1,59	48,47	10,50
	51	68,46	0,00	0,00	29,69

Nach Beendigung des Versuches war keine Spur von salpetriger oder Salpetersäure nachzuweisen. Doch lieferten die anderen Versuche 5 andere Ergebnisse; etwas Sicheres hierüber kann also nicht gesagt werden. Im Gegensatz zu den zuvor genannten Forschern haben GAYON und DUPETIT (3) im Jahre 1886 mit Reinzuchten gearbeitet, wobei sie ein *Bacterium denitrificans α* abgeschieden haben, welches die Eigentümlichkeit zeigt, daß es Stickoxyd (NO) entwickelt, wenn man zu der 10 Nährflüssigkeit (Salpeterbouillon) Asparagin zufügt; anderenfalls wird nur freier Stickstoff abgespalten. Die Temperatur, die Konzentration der Nährflüssigkeit und die Menge der Aussaat haben auf die Bildung von Stickoxyd einen merklichen Einfluß.

Ueberhaupt ist diese Form von Salpeterreduktion sehr wenig unter- 15 sucht, und namentlich ist noch zu entscheiden, ob die eigentlichen Denitrifikationsbakterien oder die im § 49 behandelten reduzierenden Bakterien unter gewissen Verhältnissen auch Stickoxyd und Stickstoffoxydul bilden können, oder ob dies eine für bestimmte Bakterienarten spezifische Eigenschaft ist. 20

§ 51. Die Reduktion von Nitraten und Nitriten zu elementarem Stickstoff.

Das Wort „Denitrifikation" wird zum ersten Male im Jahre 1882 von GAYON und DUPETIT (1) gebraucht, und zwar für die eigentliche Denitrifikation, d. h. die durch Bakterien verursachte Reduktion von 25 Salpeter mit freiem Stickstoff als Endprodukt. Obschon diese Forscher (2) in einer anderen Abhandlung dieselbe Benennung für die Reduktion zu Nitrit gebrauchen, ist es doch sowohl vom biologischen als auch vom praktischen Standpunkt aus das allein Richtige, den Namen „Denitrifikation" ausschließlich auf jenen ersteren Vorgang zu beschränken. 30 Wenn man mit Reinzuchten arbeitet, ist jede denitrifizierende Bakterienart leicht an der in Salpeterbouillon hervorgerufenen, äußerst charakteristischen Schaumbildung (s. *Fig. 19* auf S. 186) zu erkennen. Bei den im § 49 genannten reduzierenden Bakterien tritt eine solche niemals ein. Diese Schaumbildung findet man natürlich nur in solchen Flüssig- 35 keiten, welche überhaupt die physikalischen Bedingungen dafür bieten, z. B. Bouillon; sie ist durch den freiwerdenden Stickstoff verursacht. Die physiologische Bedeutung dieser Zersetzung des Salpeters ist die Lieferung von Sauerstoff für die Atmung der Bakterien in sauerstoffarmen Umgebungen. Das geht deutlich aus den Versuchen von DEHÉRAIN, 40 JENSEN u. a. hervor. In anaeroben Zuchten mit Bouillon ohne Salpeter zeigten drei von JENSEN untersuchte denitrifizierende Bakterien kein Wachstum. Wurde jedoch Salpeter zugefügt, so konnten sie sehr gut sich entwickeln, wobei aller Salpeter nach 40—45 Stunden zerstört war. Hingegen wirkte das Durchleiten von Luft so sehr verzögernd auf die 45 Denitrifikation, daß die Salpeterreaktion nach 8 Tagen noch deutlich

war, während dieselben Bakterien in Zuchten ohne Lüftung schon in 2 Tagen die gleiche Menge Salpeter zerstören konnten. Die Denitrifikation ist also als eine Art anorganischer intramolekularer Atmung zu betrachten. Vgl. auch die zugehörigen Bemerkungen auf S. 326—327 des Ersten Bandes.



Fig. 19. Bact. filefaciens. Zucht im Reagensglas in Salpeter-Bouillon; zeigt am Grunde der Flüssigkeit einen Bodensatz und über der Oberfläche starke Schaumbildung. — Natürl. Größe. Nach HJ. JENSEN.

Die erste Beobachtung einer Zerstörung des Salpeters unter Abspaltung von freiem Stickstoff ist nach Angabe von WARINGTON (2) dem ANGUS SMITH aus Manchester im Jahre 1867 zuzuschreiben. Im Jahre 1873 hat SCHLOESING (2) eine vollständige Denitrifikation in salpeterhaltiger Erde nachgewiesen, aber noch ganz ohne Hinblick auf die Tätigkeit der Mikroorganismen; vielmehr hat er den organischen Bestandteilen der Erde diese reduzierende Eigenschaft zugeschrieben. Auch LAWES, GILBERT und WARINGTON (1) finden in ihren Versuchen, daß 79 Proz. des im Boden anwesenden Nitratstickstoffes am Schlusse verschwunden waren. Die erste Behandlung vom mikrobiologischen Standpunkte aus wurde dieser Frage im Jahre 1882 durch GAYON und DUPETIT (1) zuteil. Ohne mit Reinzuchten gearbeitet zu haben, beweisen diese zwei Forscher die bakterielle Tätigkeit dadurch, daß eine Sterilisation oder ein Zusatz von Antisepticis, wie z. B. Chloroform, die denitrifizierende Wirksamkeit verhindert. Sie haben schon gefunden, daß die Denitrifikation von anwesenden assimilierbaren organischen Stoffen abhängig ist, und als solche geben sie Oliven- und Mandelöl, Glycerin, Zucker, weinsaure Salze und ganz besonders Propylalkohol an. Das durch die Gärung entwickelte Gas besteht aus reinem Stickstoff. Später, im Jahre 1886, haben dieselben Forscher (3) zwei Bakterienarten reingezüchtet, *Bacterium denitrificans* α und β genannt, die imstande sind, und zwar α stärker als β, den Salpeter zu zerstören. Als Nährboden benutzten sie Salpeterbouillon oder eine künstliche, aus Citronensäure, Asparagin und anorganischen Salzen zusammengesetzte Flüssigkeit. Es ist schon auf S. 185 bemerkt worden, daß *Bact. denitrif.* α nebst freiem Stickstoff auch Stickoxyd bilden konnte, wenn ihm Asparagin geboten wurde. Gleichzeitig mit GAYON und DUPETIT haben DEHÉRAIN und MAQUENNE (1) die Denitrifikation in Erde untersucht. Sie sind der Ansicht, daß die Zerstörung durch ein „ferment butyrique" verursacht werde, allerdings nicht direkt; aber der durch diese Bakterienart gebildete Wasserstoff reduzierte in statu nascendi den Salpeter. Später hat DEHÉRAIN (1) diese Auffassung fallen lassen und spricht im allgemeinen von „ferments réducteurs", also von verschiedenen denitrifizierenden Bakterien. Mit den Tatsachen übereinstimmend, meint er, daß die Bakterien selbst den Salpeter zerstören, und zwar zu dem Zwecke um dessen Sauerstoff zu benutzen. Im Jahre 1889 beobachtete LEONE (2) eine Reduktion von Salpeter bis zur Bildung von freiem Stickstoff, jedoch ohne Bakterienzuchten anzulegen. Aus Ackererde schieden im Jahre 1892 GILTAY und ABERSON (1) einen

Bacillus denitrificans ab, welcher die ihm gebotenen Nitrate vollständig zu elementarem Stickstoff reduzierte. Diese Bakterienart ist in künstlicher Nährflüssigkeit rein gezüchtet worden, aber die bakteriologische Beschreibung läßt sehr viel zu wünschen übrig.

Daß die Denitrifikation nicht bloß eine wissenschaftlich sehr interessante Erscheinung ist, sondern auch für die Praxis, für die Landwirtschaft, von großer Bedeutung sein kann, wird erst durch die Abhandlung von Bréal (1) aus dem Jahre 1892 deutlich. Später ist die Bewertung dieser Bedeutung für die Praxis zunächst in hohem Maße übertrieben und dann wieder in ihre natürlichen Grenzen zurückgeführt worden. Bréal, der übrigens gar nicht nach bakteriologischen Methoden arbeitete, hat nachgewiesen, daß Stroh und verschiedene andere Pflanzenstoffe imstande sind, aus einer Nitratlösung den Stickstoff im freien Zustande abzuspalten; von den daraufhin geprüften Stoffen zeigte nur alter Dünger diese Eigenschaft nicht. Bréal macht ausdrücklich darauf aufmerksam, daß solche salpeterzerstörende Stoffe in der Ackererde großen Schaden anrichten können.

Ohne übrigens diese Untersuchung von Bréal zu citieren, führte P. Wagner (1) im Jahre 1895 den Beweis für diese Vermutung, indem er zeigte, daß größere Mengen von Mist, ganz besonders Pferdemist, bei gleichzeitigem Zusatz von Salpeter oder anderen stickstoffhaltigen Stoffen die Stickstoffwirkung dieser letzteren ganz bedeutend herabdrücken. So ist z. B. in einem Versuch durch den schädigenden Einfluß des Pferdekots die Stickstoffausnutzung herabgesunken

bei Grünsubstanz von 38 Proz. auf 8 Proz.
„ Salpeterstickstoff „ 65 „ „ 30 „

Da Maercker (1) die gleichen Resultate erhalten hatte, ist es natürlich, daß die Denitrifikation die Aufmerksamkeit auf sich zog und viele Untersuchungen hervorrief. Die erste eigentlich bakteriologische Prüfung der Frage verdanken wir Burri und Stutzer (1). Abgesehen von verschiedenen weniger richtigen Einzelheiten in ihren Arbeiten, die übrigens später teils von Stutzer selbst und teils von anderen berichtigt worden sind, haben diese zwei Forscher das große Verdienst, die Forschung auf eine richtige Bahn geleitet zu haben, und zwar durch Einführen des Arbeitens mit Reinzuchten und einer genauen Kennzeichnung der gezüchteten Bakterien. Sie selbst haben zwei Arten beschrieben, die sie *Bacillus denitrificans I* und *II* nennen. (Später durch Lehmann und Neumann in *Bacterium denitrificans* und *Bact. Stutzeri* umgenannt.) Diese zwei Bakterienarten zeigten einen merkwürdigen Unterschied: während *Bact. Stutzeri*, ganz wie die von Gayon und Dupetit und von Giltay und Aberson gezüchteten Bakterien, den Salpeter ohne Zusammenwirken mit anderen Bakterien spalten konnte, zeigte *Bact. denitrificans* diese Eigenschaft nur in symbiotischen Zuchten mit *Bact. coli* oder *Bacillus typhi abdominalis*. Die Erklärung hierfür ist durch Weissenberg (1) gegeben worden, welcher fand, daß *B. denitrificans* wohl Nitrit aber nicht Nitrat zerstören kann. Wenn aber zugleich eine reduzierende Bakterie, wie z. B. das *B. coli*, anwesend ist, kommt eine Denitrifikation der salpetersauren Salze zustande, andernfalls nur der salpetrigsauren.

Nach diesen ersten Untersuchungen ist dann eine beträchtliche Anzahl von denitrifizierenden Bakterienarten beschrieben worden, wovon Lemmermann (1) eine Aufzählung gibt. Wie in der bakteriologischen Floristik überhaupt, wäre es auch hier sehr erwünscht, zu untersuchen, ob nicht mehrere von diesen Arten mit anderen, welche schon früher unter

anderen Namen beschrieben worden waren, identisch sind. Abgesehen von den schon erwähnten, durch Gayon und Dupetit, durch Giltay und Aberson und durch Burri und Stutzer gezüchteten Arten sind u. a. neue Arten beschrieben worden: von Schirokikh (1) das *Bact. Schirokikhi* Jensen, 5 von Ampola und Garino (1) das *Bact. agile*, von Sewerin (1) der *Vibrio denitrificans*, von Jensen (2) das *Bact. filefaciens*, das *Bact. centropunctatum*, das *Bact. Hartlebii*, das *Bact. nitrovorum*, von Künnemann (1) der *Bac. denitrificans III*, von Ampola und Ulpiani (1) der *Bac. denitrificans V*, von Gran (1) der *Bac. repens*, der *Bac. trivialis*, der *Bac. Hensenii*, von 10 Iterson (1) der *Bac. denitrofluorescens*, der *Bac. vulpinus* und von Höflich (1) der *Bac. proteus denitrificans*, der *Vibrio denitrificans II*, der *Bac. denitrificans*. Daß *Bact. coli commune*, wie Wolf (1), Stoklasa (1) und Pennington und Küsel (1) es behaupten, den Salpeter nicht bloß zu Nitrit reduzieren sondern völlig denitrifizieren könne, bleibt vorläufig 15 sehr zweifelhaft. Dagegen ist dies für einzelne andere schon früher gut bekannte Bakterien sicher festgestellt, so z. B. für *B. pyocyaneum*.

Denitrifizierende Bakterien sind in der Natur sehr allgemein verbreitet; sie sind in der Luft, im Ackerboden, und zwar sowohl im gedüngten als auch im ungedüngten (Höflich) gefunden worden. Hingegen 20 hat es den Anschein, daß ganz unkultivierte Erde solche Bakterien nicht enthalte (Jensen). Auch im Kanalwasser zufolge Iterson (1), im Meer zufolge Gran (1) und Bauer (citiert bei Weissenberg [2]) usw. hat man sie angetroffen. Eine ganz besondere Rolle spielt das Vorkommen auf Stroh (zuerst von Bréal [1] nachgewiesen) und in Fäces von verschiedenen 25 Tieren. Es zeigte sich nach den Untersuchungen von Jensen (2), daß man nur bei den Herbivoren Denitrifikationsbakterien im Kot konstant findet; jedoch nicht in den Fäces von Omnivoren und von Carnivoren (Mensch, Hund, Löwe, Schwein, Maus, Meerschweinchen, Taube, Kanarienvögel, Gans und Regenwürmer). Durch Fütterungsversuche am Menschen, 30 am Hunde und an Regenwürmern hat Jensen gezeigt, daß die betreffenden Bakterien im Verdauungskanal dieser Wirte absterben.

Das Verhalten der Denitrifikationsbakterien gegenüber Sauerstoff ist schon auf S. 186 erörtert worden; die Bakterien wachsen sehr gut unter aeroben Bedingungen, vermögen aber auch fakultativ anaerob zu 35 gedeihen, wenn Nitrate oder Nitrite vorhanden sind. Die Salpeterzersetzung muß also als ein Atmungsvorgang, als biotischer Prozeß, gedeutet werden. Erwähnt sei hier, daß auch andere Auffassungen vertreten worden sind. So hat K. Wolf (1) behauptet, daß die Denitrifikation auf eine Zerstörung des Salpeters durch Stoffwechselprodukte 40 zurückgeführt werden könne, und er verallgemeinert seine Beobachtungsergebnisse dahin, daß „bei jeder Gärung, durch welche Organismen dieselbe auch hervorgerufen werden mag, das in der Zuckerlösung vorhandene Nitrat zerstört wird". Daß es sich in den Versuchen von Wolf um ganz andere Vorgänge als die eigentliche Denitrifikation handelt, 45 hat Weissenberg (2) gezeigt. Auch Pfeiffer und Lemmermann (1) und Stoklasa und Vitek (1) diskutieren die physiologische Bedeutung der Denitrifikation, ohne jedoch zu klaren Ergebnissen zu kommen.

Eine absolut notwendige Bedingung für die salpeterzerstörende Wirksamkeit der Denitrifikationsbakterien ist die Anwesenheit von 50 assimilierbaren organischen Stoffen.[1]) Ueber die Brauchbarkeit von

[1]) Nach Abschluß des Manuskriptes ist mir im Bot. Centralbl., 1904, Bd. 95, S. 157 ein Referat über eine Arbeit von Hiltner und Störmer (1) zugegangen, wonach ein

verschiedenen von diesen ist eine ansehnliche Anzahl von Untersuchungen ausgeführt worden, welche jedoch zu sehr verschiedenen Ergebnissen führten, je nachdem der Experimentator mit Reinzuchten gearbeitet hat oder nicht. Wenn DEHÉRAIN (1) z. B. angibt, daß Stärke von den betreffenden Bakterien verbraucht wird, so ist das nach JENSEN (1) so zu erklären, daß die Stärke, wie auch Glycerin, erst durch andere Bakterien in organische Säuren umgebildet wird, welche nach allen Untersuchungen eben vortreffliche Nährstoffe für die Denitrifikationsbakterien sind. Etwas Aehnliches gilt wahrscheinlich auch für Stroh, Mist und andere natürliche Nährböden, in denen doch immer ein Reichtum von Fäulnisbakterien vorhanden ist, welche die schwer assimilierbaren organischen Stoffe in leicht assimilierbare umwandeln können. Das Verhalten gegenüber einer großen Menge organischer Stoffe ist durch SALZMANN (1) untersucht worden; dabei hat sich ergeben, daß die verschiedenen Bakterien gegenüber den dargebotenen Nährstoffen sich verschieden verhalten. Wenn KRÜGER und SCHNEIDEWIND (1) die Pentosane und STOKLASA (1) besonders die Xylose als Hauptnahrung für diese Bakterien betrachten, so ist dies wohl etwas einseitig, weil ja diese Stoffe hier kaum eine größere Rolle als viele andere spielen. Zugehörige Bemerkungen betreffend die Vergärung von Cellulose durch denitrifizierende Bakterien findet man im § 75 des 9. Kapitels vorliegenden Bandes.

Die drei Hauptbedingungen für die Denitrifikation sind also: 1. Anwesenheit von Salpeter; 2. Reichliche Mengen leicht assimilierbarer organischer Stoffe und 3. Sehr gemäßigtes Zutreten von Sauerstoff. Das sind, wie man sieht, geradezu die den Bedingungen für die Nitrifikation entgegengesetzten. Wenn man jene drei Forderungen festhält, wird man leicht über die Bedeutung der Denitrifikation für den praktischen Ackerbau ins klare kommen können. Hierüber ist eine weitläufige Auseinandersetzung gepflogen worden. Nach den im Jahre 1895 durch WAGNER (1) und MAERCKER (1) angestellten Untersuchungen wurde wohl der der Landwirtschaft durch die Denitrifikation verursachte Schaden etwas übertrieben, obwohl es lange nicht, wie DEHÉRAIN (2), WARINGTON (2) und ROGÓYSKI (1) behaupten, der Fall war, daß „die deutschen Agrikulturchemiker einstimmig" dieser Uebertreibung beitraten. Im Gegenteil haben verschiedene deutsche Forscher, z. B. PFEIFFER und LEMMERMANN (2), ja, sogar WAGNER selbst (2, S. 267) dasselbe wie DEHÉRAIN und ROGOYSKI hervorgehoben, daß nämlich eine Denitrifikation nur durch solch große Düngermengen bewirkt wird, wie WAGNER sie in seinen Versuchen benutzt hat. In der Praxis kommt solch starke Düngung aber nicht vor; es ist also die eigentliche Denitrifikation auf dem Felde von gar keiner oder nur einer sehr zufälligen und kleinen Bedeutung. Daß die Denitrifikation bei den Stickstoffverlusten des Stallmistes mitspielen sollte, ist, wie auch BEHRENS (1) angibt, sehr zweifelhaft. Die eine Voraussetzung für die Denitrifikation, die Anwesenheit von Salpeter, ist im Stallmist nicht gegeben, weil die Bedingungen für eine Bildung von Salpeter hier so ungünstig als möglich sind; wie denn auch DEHÉRAIN und DUPONT (1) angeben, niemals Salpeter im Stallmist gefunden zu haben. Und ohne Salpeter im Stallmist gibt es natürlich auch keine Denitrifikation. Der einzige Fall, in welchem

---

Bodenbakterium gefunden worden sein soll, welches Nitrit unter lebhafter Gasbildung, ohne organische Substanz zu verbrauchen, vergären kann.

die Denitrifikation für den praktischen Ackerbau von Bedeutung sein könnte, würde der (wenig wahrscheinliche) sein, daß der Landwirt zu gleicher Zeit reichliche Mengen von Stallmist und von Salpeter miteinander gemischt als Dünger verwendete.

§ 52. Die Verarmung des Bodens an Nitraten durch die Assimilationstätigkeit von Mikroorganismen. Die Entbindung von freiem Stickstoff bei der Fäulnis.

Von viel größerer Bedeutung als die Denitrifikation ist in der Natur wahrscheinlich die Salpeterassimilation durch die Mikroorganismen. Hierüber liegen jedoch sehr wenige zuverlässige Untersuchungen vor. Schon Berthelot (1) hat im Jahre 1888 nachgewiesen, daß in einem Topf mit Erde die organischen Stickstoffverbindungen auf Kosten des Salpeterstickstoffes zunahmen: in seinem Versuche von 72,3 g auf 88,6 g organisch gebundenen Stickstoffs. Diese Wirkung schreibt er jedenfalls teilweise den Mikroorganismen zu, und zwar vielleicht denselben, welche den freien Stickstoff aus der Atmosphäre binden können. Daß Bakterien Salpeter assimilieren können, wird von Flügge (1) bezweifelt, scheint aber nach den quantitativen Versuchen von Jensen (2) für Bakterien in Fäces von Menschen und Hunden nachgewiesen zu sein. Eine Assimilation des Salpeterstickstoffes durch Bakterien ist übrigens wiederholt festgestellt worden, so z. B. von Rogóyski (1), von Frankland (1) u. a. Nähere Angaben darüber sind im § 87 des 14. Kapitels des I. Bandes zu finden.

Die letzte Form von Stickstoffentbindung, Freiwerden von Stickstoff durch Fäulnis der organischen Stickstoffverbindungen, soll hier nur kurz erwähnt werden, weil sie im 16. Kapitel dieses Bandes ihre Erledigung finden soll. Zudem sind die darüber vorliegenden Befunde bis jetzt noch sehr unsicher; insbesondere ist zu bedauern, daß mit Reinzuchten noch nicht Untersuchungen angestellt worden sind. Als Impfmaterial sind immer nur bakteriologisch wenig bestimmte Zusätze, wie ein Tropfen einer Emulsion von faulendem Fleisch, Bodenauszüge etc., benützt worden. Einander scharf gegenüber stehen die Anschauungen einerseits derjenigen Forscher, welche ein positives Resultat, ein Freiwerden von Stickstoff, gefunden haben, und andrerseits derjenigen, welche zu einem negativen Resultate gelangt sind. Schon Reiset (1) fand im Jahre 1856 ein solches Freiwerden von Stickstoff; seine Ergebnisse verallgemeinert er so stark, daß er schreibt: „Dans tous les cas, lorsqu'une matière organique azotée éprouve la décomposition putride, une partie de son azote se dégage à l'état gazeux." Auch später im Jahre 1889 findet er (3) bedeutende Stickstoffverluste in faulendem Fleisch und Pferdekot. Auch andere Forscher haben einen solchen Stickstoffverlust in faulenden Eiweißstoffen festgestellt, so Dehérain (3), Dehérain und Dupont (1), Gibson (1) u. a. Zu der entgegengesetzten Ansicht gelangten Hüfner (1), Kellner und Yoshii (1), Tacke (1), Immendorff (1) u. a. Endlich haben Schloesing (3) und Lawes, Gilbert und Pugh wohl Stickstoffverluste gefunden, aber nur ziemlich kleine. Wir müssen wahrscheinlich annehmen, daß die Vergärung der in Stallmist, Fleisch, Pflanzenteilen etc. enthaltenen Eiweißstoffe je nach den verschiedenen Bedingungen ganz verschieden verlaufen kann; auf der einen Seite steht ein (wahrscheinlich mit Entwicklung von Wasserstoff verbundenes) Freiwerden von Stickstoff, auf der anderen Seite eine Gärung ohne einen solchen Verlust an

freiem Stickstoff. Inwieweit nun die verschiedenen physikalischen und chemischen Faktoren hier mitbestimmend sind, oder ob vielleicht verschiedene Bakterienarten, für sich allein oder in Symbiose mit anderen, diese Verschiedenheiten verschulden, wissen wir derzeit noch nicht.

Daß die äußeren Bedingungen nur in Laboratoriumsversuchen, und zwar nur in tadellos angestellten Versuchen, so einfach vorliegen, daß man von den verschiedenen Formen der Umlagerung des Stickstoffmoleküls jede für sich klar und deutlich zu erkennen vermag, versteht sich von selbst. Darum bemerkt man auch in manchen Versuchen ein eigenartiges Wechseln von Nitrifikation und Denitrifikation, woraus Leone (1) Veranlassung genommen hat, diese zwei diametral entgegengesetzten Erscheinungen denselben Mikroorganismen zuzuschreiben. Munro (1) bemerkte in Rohzuchten mit Urin und anderen Stoffen ein solches Wechseln bis zu dreimal, und auch Richards und Rolfs (1) fanden dasselbe. Wenn dies aber schon in Laboratoriumversuchen der Fall ist, wie viel komplizierter sind dann erst die Verhältnisse im Boden und im Stallmist (siehe den 5. Abschnitt dieses Bandes), jenen zwei für die Landwirtschaft so wichtigen Werkstätten für alle diese Mikroorganismen. Hier spielen ja nicht allein die in diesem Paragraphen erwähnten Bakterien eine Rolle, sondern auch die Nitrifikationsbakterien, die ammoniakbildenden Organismen (s. Bd. I, S. 310—312), über die uns Marchal (1) schöne Untersuchungen geliefert hat, und viele andere Kleinlebewesen.

Literatur

zum Kapitel Denitrifikation und Stickstoffentbindung.

*Ampola und Garino. (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 670. *Ampola und Ulpiani, (1) Gazz. chim. ital., 1898, S. 410. *Behrens, (1) Arb. d. D. Landw.-Ges., 1901, Heft 64. *Berthelot, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1888, Bd. 106, S. 638. *Bréal, (1) Ann. agron., 1892, Bd. 18, S. 181. *Burri und Stutzer, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1895, Bd. 1, S. 257. *Dehérain, (1) Ann. agron., 1897, Bd. 23, S. 49. — (2) Ebenda, 1898, Bd. 24, S. 130. — (3) Ebenda, 1898, Bd. 24, S. 401. *Dehérain und Dupont, (1) Ann. agron., 1899, Bd. 25, S. 401. *Dehérain und Maquenne, (1) Ann. agron., 1883, Bd. 9, S. 6. *Dieudonné, (1) Arb. Kais. Ges.-Amt., 1895, Bd. 11, S. 508. *Dubrunfaut, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1868, Bd. 66, S. 275. *Fichtenholz, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1899, Bd. 128, S. 442. *Flügge, (1) Die Mikroorganismen, 1896, 3. Aufl., Bd. 1, S. 119. *Frankland, G. C. und P. F., (1) Z. f. Hyg., 1889, Bd. 6, S. 373. *Frankland, P. F., (1) Chem. News, 1888, Bd. 57, S. 89. *Gayon und Dupetit, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1882, Bd. 95, S. 644. — (2) Ebenda, 1882, Bd. 95, S. 1365. — (3) Recherches sur la réduction des nitrates par les infinements petits, Nancy 1886. *Gibson, (1) On the liberation of Nitrogen during the process of putrefaction, 1893; Wollnys Forschungen, 1895, Bd. 18, S. 106. *Giltay und Aberson, (1) Arch. neerlandaises, 1892, Bd. 25, S. 341. *Goppelsröder, (1) Poggendorffs Ann., 1862, Bd. 115, S. 125. *Gran, (1) Bergens Museums Aarbog, 1901, Nr. 10. *Heraeus, (1) Z. f. Hyg., 1886, Bd. 1, S. 193. *Hiltner und Störmer, (1) Arb. a. d. Biolog. Abt. a. Kais. Ges.-Amt, 1903, Bd. 3, H. 5, S. 445. *Höflich, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 245. *Hüfner, (1) J. f. prakt. Chem., 1876, Bd. 13, S. 292. *Immendorff, (1) J. f. Landwirtschaft, 1893, Bd. 41, S. 1. *Iterson, (1) Versl. v. d. kon. Akad. v. Wetensch. te Amsterdam, 1902, Bd. 11, S. 135. *Jensen, Hj., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1897, Bd. 3, S. 622. — (2) Ebenda, 1898, Bd. 4, S. 401. *Jordan und Richards, (1) Rep. Mass. State Board of Health, 1890, S. 865. *Kellner, O., und Yoshii, T., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1888, Bd. 12, S. 95. *Krüger und Schneidewind, (1) Landw. Jahrbücher, 1899, Bd. 28, S. 217. *Künnemann, (1) Landw. Versuchsstationen, 1898, Bd. 50, S. 65. *Laurent, (1) Bull. de l'Acad. Roy. de Belgique, 1890, 3. sér., Bd. 20, S. 309. — (2) Ebenda, 1890, 3. sér., Bd. 20, S. 478. — (3) Ebenda, 1891, 3. sér., Bd. 21, S. 337. *Lawes, Gilbert und Warington, (1) On the amount and composition of the rain- and drainagewaters, London 1892. Siehe König: Wie kann der Landwirt den Stickstoffvorrat . . . 1893. *Lemmermann, (1) Kritische Studien über Denitrifikationsvorgänge, Habilitationsschrift, Jena 1900. *Leone, (1) Gazz. chim. ital., 1886, Bd. 16, S. 505; siehe Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1887,

Bd. 20, S. 226. — (2) Atti d. R. Accad. dei Lincei, Rendiconti, 1889, II. Sem., S. 171; siehe Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1890, Bd. 23, S. 179. ***Lutz**, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1898, Bd. 126, S. 1227. ***Maassen**, (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1901, Bd. 18, S. 21. ***Maercker**, Jahrbuch d. agrikulturchem. Stat. in Halle, 1896 und 1897. ***Marchal**, (1) Bull. de l'Ac. Roy. de Belgique, 1893, 3 sér., Bd. 25, S. 727. ***Marpmann**, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 67. ***Meusel**, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1875, Bd. 81, S. 533. ***Munro**, (1) Ann. agron., 1887, Bd. 13, S. 113. ***Pennington** und **Küsel**, (1) Journ. Amer. Chem. Soc., 1900, Bd. 22, S. 556. ***Pfeiffer** und **Lemmermann**, (1) Landw. Versuchsstationen, 1898, Bd. 50, S. 115. — (2) Ebenda, 1900, Bd. 54, S. 462. ***Reiset**, Comptes rend. de l'Ac., 1856, Bd. 42, S. 53. — (2) Ebenda, 1868, Bd. 66, S. 177. — (3) Ebenda, 1889, Bd. 108, S. 708. ***Richards** und **Rolfs**, (1) Techn. Quart., 1896, Bd. 9, S. 40; siehe Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 709. ***Rogóyski**, (1) Bull. de l'Acad. des sc. de Cracovie, 1899, S. 385. ***Rubner**, (1) Arch. f. Hyg., 1893, Bd. 16, S. 62. ***Salzmann**, (1) Chem.-phys. Unters. ü. d. Lebensbeding. v. zwei Arten denitrif. Bakt., Dissert., Königsberg 1901. ***Schirokikh**, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 204. ***Schloesing**, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1868, Bd. 66, S. 237. — (2) Ebenda, 1873, Bd. 77, S. 353. — (3) Ebenda, 1889, Bd. 108, S. 205 u. 261. ***Sewerin**, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1897, Bd. 3, S. 517. — (2) Ebenda, 1904, Bd. 11, S. 451. ***Springer**, (1) Ref. in Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1883, Bd. 16, S. 1228. ***Stoklasa**, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 817. ***Stoklasa** und **Vitek**, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 257. ***Tacke**, (1) Landw. Jahrbücher, 1887, Bd. 16, S. 917. ***Wagner**, P., (1) Deutsche landw. Presse, 1895, S. 92. — (2) Landw. Versuchsstationen, 1897, Bd. 48, S. 247. ***Warington**, (1) The chem. actions of some microorganisms, London 1888; siehe Chem. News, 1888, Bd. 57, S. 246. — (2) Ann. agron., 1898, Bd. 24, S. 145. ***Weissenberg**, H., (1) Arch. f. Hyg., 1897, Bd. 30, S. 274. — (2) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 166. ***Wolf**, Kurt, (1) Hyg. Rundschau, 1899, Bd. 9, S. 538 u. 1169.

Zweiter Abschnitt.

Die Eisenbakterien. Der Kreislauf des Schwefels.

(Manuskript-Einlauf: 15. Sept. 1901.)

7. Kapitel.

Die Eisenbakterien, Cladotricheen, Streptotricheen und Actinomyceten.

Von Dr. W. Rullmann
in München.

(Mit Tafel VI.)

§ 53. Morphologie der Eisenbakterien.

Erst der neueren Zeit war es vorbehalten, die in der Ueberschrift dieses Kapitels genannten Gattungen so scharf zu kennzeichnen, daß jetzt eine genaue Unterscheidung ermöglicht wurde. Es ist ein Verdienst Alfr. Fischer's und Migula's, daß sie durch Aufstellung ihrer 5 Bakteriensysteme (s. Bd. I, S. 144 u. 145) auch die bestimmtesten Unterscheidungsmerkmale für die zunächst zu besprechenden Eisenbakterien festlegten. In betreff dieser ist bekannt, daß schon Ehrenberg (1) auf fädige Bakterien aufmerksam machte, welche unter normalen Wachstumsverhältnissen rostfarbige Scheiden besitzen. Später folgten Cohn (1) und 10 Zopf (1), und Winogradsky (1) verdanken wir die erste genauere physiologische Untersuchung dieser Gruppe, wobei er die früher hierüber erschienenen Arbeiten genau würdigte.

Während Fischer die Eisenbakterien der Familie der Trichobacteriaceen oder Fadenbakterien zuteilt (Fäden unbeweglich, starr, 15 in eine Scheide eingeschlossen), reiht sie Migula in die Familie der Chlamydobacteriaceen ein und unterscheidet zwei Gattungen, deren erste, *Chlamydothrix*, sich dadurch auszeichnet, daß bei ihr die Zellen zylindrisch, unbeweglich und zu unverzweigten, von dicken oder dünnen Scheiden umschlossenen Fäden angeordnet sind, welche einen Gegensatz 20 von Basis und Spitze nicht erkennen lassen. Bei dieser ersten und der später folgenden zweiten Gattung, *Crenothrix*, erfolgt die Vermehrung durch unbewegliche Gonidien, welche unmittelbar aus den vegetativen

Zellen hervorgehen und, ohne eine Ruheperiode durchzumachen, zu neuen Fäden auswachsen.

Zu der Gattung *Chlamydothrix* rechnet MIGULA die *Leptothrix* (*Chlamydothrix*) *ochracea* KÜTZING. Diese hat farblose, zylindrische, zu Fäden angeordnete Zellen, mit dünner, farbloser, im Alter dick und gelb bis braun werdender Scheide. Die jungen Fäden sind etwa 8 μ dick; die Scheide ist an ihnen oft kaum erkennbar, ebensowenig eine Gliederung in einzelne Zellen. In den älteren Fäden wird die Scheide durch Einlagerung von Eisenoxydhydrat gelb bis braun und oft doppelt so dick als die Zellen selbst. Die Vermehrung erfolgt bei dieser Art durch unbewegliche, eiförmige Gonidien, die oft an den leeren Scheiden selbst auskeimen; sie werden durch Strömungen an andere Gegenstände, Wasserpflanzen, Algen usw., gespült und kleben hier fest. Sie teilen sich dann einfach in derselben Weise wie die vegetativen Zellen und wachsen zu neuen Fäden aus.

Die eisenhaltigen Scheiden sind sehr widerstandsfähig und zerfallen langsam, so daß die gelbbraunen Massen, welche diese Art in eisenhaltigen Wässern bildet, zumeist aus den leeren Scheiden bestehen; in dem ockergelben, von dieser Bakterienart bewohnten Schlamme sieht man daher häufig noch ungeheure Massen leerer Scheiden, welche sich lange Zeit unzersetzt halten können. Diese Art ist das am häufigsten vorkommende Eisenbakterium.

Nun hat HANSGIRG die *Leptothrix ochracea* KÜTZING und die *Gallionella ferruginea* EHRENBERG in eine Art vereinigt, indem er letztere als einen Entwicklungszustand der ersteren bezeichnete. MIGULA (1) dagegen schied, wie vorstehend ausgeführt, die *Leptothrix ochracea* von der Algengattung *Leptothrix* aus und benannte sie *Chlamydothrix ochracea*, bezeichnete aber die *Gallionella ferruginea* EHRENBERG als *Chlamydothrix ferruginea*, weil beide zwar wesentlich verschieden sind, aber doch einer Gattung angehören.

Diese letztere bildet feine, hellgelbliche bis braune Fäden, in denen eine Gliederung auch nach Anwendung von Reagentien nicht erkennbar ist. Bei schwacher Vergrößerung betrachtet, erscheinen die Fäden in zweierlei Gestalt; die einen stellen sehr zarte, unregelmäßig gewundene, gelbliche, ungegliederte Fäden von etwa 1 μ Dicke dar, die teils einzeln liegen, teils zu kleinen Flöckchen vereinigt sind, während die anderen als sehr feine, aus einzelnen Gliedern deutlich zusammengesetzte Ketten sich erweisen, die aber doch mehr als doppelt so dick wie die einfachen Fäden sind. Beide Formen scheinen ohne Zusammenhang zu sein, bis man solche Präparate mit stärkeren Systemen untersucht; die scheinbaren Ketten lösen sich dann in Schrauben auf, die aus zwei eng umeinander geschlungenen Fäden gebildet werden, wie solche auch vielfach bei *Spirulina* vorkommen. Auch die Schleifen und Oesen finden sich wie bei dieser letzteren an dem einen Ende der Schraube wieder. Die ganz locker gewundenen Schrauben bilden den Uebergang zu den freien, nur mehr oder weniger regelmäßig gekrümmten Fäden, welche oft noch einige Verschlingungen zeigen, ohne daß man dabei aber von Schrauben sprechen könnte, ja manchmal sind sie ganz frei und ziemlich gerade. Worauf dieses wechselnde Verhalten zurückzuführen ist, läßt sich schwer entscheiden. Vielfach wird angenommen, daß Kontaktreize auslösend wirken.

Nachdem es MIGULA (1) gelungen ist, an lebendem Material an Ort und Stelle des Vorkommens das Vorhandensein einer allerdings außer-

ordentlich zarten Scheide nachzuweisen, sah er sich veranlaßt, diese Art in eine Gattung mit *Leptothrix ochracea* zu vereinigen.

In der neuesten Zeit wurden unsere Kenntnisse über die Eisenbakterien im allgemeinen und über *Chlamydothrix* oder *Gallionella* im besonderen durch die Arbeiten von Adler (1) und Schorler (1) ganz wesentlich erweitert.

So fand Adler die *Gallionella ferruginea* in den verschiedensten Eisenwässern, und zwar gelang es ihm, sie in 12 von 41 untersuchten Wässern konstant nachzuweisen; er schließt daher, daß sie ein weitverbreiteter Organismus sei, welcher besonders in dem in Flaschen abgefüllten Eisenwasser sich stark vermehrt und bei der mangelhaften Haltbarkeit der Eisenwässer in Flaschen eine große Rolle spielt. Ebenso fand sie Schorler häufig bei Untersuchungen der Wässer des Elbtalkessels.

Die zweite in eisenhaltigen Wässern vorkommende Gattung, *Crenothrix*, charakterisiert Migula (1) als fadenbildende Bakterien, ohne Verzweigung, mit Gegensatz von Basis und Spitze, festsitzend und nach dem freien Ende allmählich dicker werdend. Scheide ziemlich dick, leere Scheiden oder solche von älteren Fäden in eisenhaltigen Wässern mit Eisenoxydhydrat, $Fe_2(OH)_6$, durchsetzt. Zellen zylindrisch bis schwach scheibenförmig. Vermehrung durch unbewegliche Gonidien von meist kugliger Gestalt, die aus den vegetativen Zellen durch Teilung und Abrundung hervorgehen. Dabei teilen sich die Zellen dickerer Fäden nach drei Richtungen des Raumes, die dünneren aber nur senkrecht zur Längsrichtung des Fadens; die Gonidien werden entleert und keimen sofort, oft noch an der Scheide des Mutterfadens, wieder aus (s. Bd. I. S. 126 u. 127).

Die einzige bis jetzt bekannte Art, *Crenothrix polyspora* Cohn oder *Leptothrix Kühniana* Rabenhorst, kommt in festsitzenden, später auch losgerissenen Fäden vor, welche durch Ockereinlagerung (s. *Taf. VI, Fig. 1*) in den Scheiden gelbliche bis bräunliche Räschen bilden, die an der Spitze 1,5—5 μ und an der Basis 4—9 μ dick sind. Eigentümlich ist der Umstand, daß bei der Gonidienbildung nur in den stärkeren Fäden eine Teilung nach drei Richtungen des Raumes stattfindet. Die Gonidien selbst sind sehr ungleich dick, meist rund, zuweilen etwas länglich. Die Scheide ist an den dünnen Fäden sehr zart, an den dicken deutlich konturiert. Junge Fäden zeigen öfters an der Spitze keine Scheide. Die Räschen haben meist nur eine Länge von 2—3 mm.

Aus der vorher erwähnten Arbeit von Schorler ist bezüglich der *Crenothrix polyspora* zu ersehen, daß sie als festsitzende Pflanze sich zuerst in den Brunnen auf dem Brunnenboden einstellt und hier schon lange eine üppige Vegetation erzeugen kann, ohne daß solche bemerkt wird. Mit den üblichen Probeentnahmen für bakteriologische Zwecke ist ihr gegenüber nichts zu machen, und muß man sich, da ihre Keime sich wohl dem Wasser beimischen, aber auf den gewöhnlichen Nährböden nach den bisherigen Erfahrungen nicht zur Entwicklung gelangen und so nachweisbar werden, eines sogenannten Grund- oder Schlammschöpfers, wie er zum Sammeln von Diatomeen und anderen Bodenalgen benutzt wird, bedienen. Um bei der Probeentnahme aus mehreren Brunnen eine Verschleppung der *Crenothrix* durch den Schlammschöpfer zu vermeiden, ist jedesmalige Sterilisation desselben erforderlich. Wird mittels dieses Instrumentes ein Bodenschlamm, welcher die *Crenothrix polyspora* enthält, in die Höhe befördert, so zeigt er sich gelb bis graubraun oder dunkel-

braun, ja fast schwarz. Im ersteren Falle zeigen sich sogar einzelne grauweiße Flocken: diese verschiedenen Färbungen sind sehr erwähnenswert und in dem wechselnden chemisch-biologischen Verhalten des Organismus begründet, worauf später eingegangen wird. Beim Untersuchen 5 der grauen Flocken unter starker Vergrößerung fand SCHORLER das typische Bild der *Crenothrix*, wie es seit COHN gewöhnlich gezeichnet wird: farblose, unverzweigte Fäden, die nach dem freien Ende allmählich dicker werden und hier in reicher Menge die kleinen, kugeligen Gonidien enthalten. Dazwischen liegen zahlreiche Haufen von ausgetretenen 10 Gonidien, welche zusammenhängende Zooglöen bilden. Diejenigen Fäden, welche keine Gonidienbildung aufweisen, sind gleichmäßig dick und enthalten Zellen, welche bis zweimal so lang als breit sein können, öfters aber breiter als lang sind. Am häufigsten traf SCHORLER die gonidienbildenden Fäden im Monat April an. Ob auch anderwärts *Crenothrix* 15 zu gewissen Zeiten erhöhte Wachstums- und Vermehrungsperioden zeigt, konnte der Forscher aus der Literatur nicht ersehen. Nur ZOPF erwähnt, daß braune, eisenhaltige Fäden mit ihren dicken, undurchsichtigen Scheiden, welche er als winterliche Dauerzustände ansieht, im Frühjahr zu farblosen Fäden in üppigster Weise auswachsen und 20 dürfte gerade dieser Punkt in Hinsicht auf anzuwendende Vertilgungsmaßregeln genauer zu prüfen sein. Auch diese farblosen Fäden werden durch die bekannte Reaktion mit gelbem Blutlaugensalz und Salzsäure schwach blau gefärbt. In den hellbraunen Maßen finden sich viele durch Eisenhydroxydeinlagerung gelbbraun gefärbte Fäden neben farb-25 losen, oder die Fäden sind an der Spitze farblos und weiter abwärts deutlich gelb gefärbt. Nach COHN sind die gefärbten Fäden die älteren. Dagegen treten in den dunkelbraunen und schwarzen Massen die farblosen Fäden ganz zurück und die gonidienbildenden fehlen meist ganz. Sehr auffallend ist die verhältnismäßig sehr be-30 deutende Dicke der intensiv braun gefärbten Fäden, und nach Bakterienzellen sucht man vergebens, da die schwarzen Massen meist nur aus leeren Scheiden, wie ja auch schon früher bekannt, bestehen.

Im physiologischen Teile wird die quantitativ verschiedene Aufspeicherung von Eisen und Mangan bei dieser Gattung noch aus-35 führlich besprochen werden, und da JACKSON (1) ebenso wie BEYTHIEN, HEMPEL und KRAFT (1) bei ihren Untersuchungen *Crenothrix*-Scheiden mit einem außerordentlich hohen Mangangehalt fanden, glaubte JACKSON eine besondere *Crenothrix manganifera* aufstellen zu dürfen, was jedoch SCHORLER für nicht gerechtfertigt hält, da das einzige morpho-40 logische Unterscheidungsmerkmal in der größeren Dicke der Fäden resp. Scheiden beruht. Weil aber die äußere Membranschicht der Bakterienzelle, je nach der Natur des Nährbodens, eine recht verschiedene Quellbarkeit besitzt und dadurch bei derselben Art dicker und dünner werden kann, so darf man die sog. *Crenothrix manganifera* nicht einmal 45 als besondere physiologische oder biologische Rasse der *Crenothrix polyspora* ansehen, da neuerdings ADLER (1) nachgewiesen hat, daß die zu den Flagellaten gehörige *Antophysa vegetans*, welche in ihren Gallerthüllen oft Eisen aufspeichert, dieses durch Mangan ersetzen kann, wobei ebenfalls, wie bei *Crenothrix*, eine beträchtliche Scheidenverdickung ein-50 tritt. Hieraus folgert SCHORLER, daß diese Erscheinung nur der Einwirkung einer solchen Lösung und nicht einer besonderen Fähigkeit der sog. *Cren. manganifera* zuzuschreiben sei, da man sonst auch die eisen-

freien Crenothrixfäden als verschieden von denen mit Eiseneinlagerung betrachten müsste.

Ein recht abweichendes Aussehen zeigte eine *Crenothrix*, welche aus einer neuen Wasseranlage unterhalb Hosterwitz a. d. Elbe stammt. Beim Absetzen des Bodenschlammes bildete sich eine sehr feine, körnige, fast schleimige oberste Schicht, deren mikroskopische Untersuchung etwas gekrümmte 2—300 μ lange Fäden von fast wurmartigen Aussehen und bis zu 15 μ Dicke ergab. Die äußeren Umrisse waren wenig scharf, meist verschwommen, im Inneren zog sich ein deutlich wahrnehmbarer ca. 2 μ dicker Kanal von einem abgerundeten Ende zum anderen, der aber inhaltslos erschien, bis sich bei sehr starker Vergrößerung eine feine, aber spärliche Körnelung erkennen ließ. Nach Auffindung brauner Fadenstücke gleichen Baues bestätigte es sich, daß die farblosen, dicken Fäden, trotz ihres so abweichenden Aussehens, doch der *Crenothrix polyspora* angehörten, und die Annahme erschien berechtigt, daß die Eiseneinlagerung durch Einwirkung kohlensäurehaltigen Wassers verloren gegangen sei. Auch hier zeigte es sich, daß der verschiedene Gehalt des Wassers an gelösten Nährstoffen die größere oder geringere Ueppigkeit der Vegetation bedinge.

Den sehr eingehenden Untersuchungen SCHORLER's ist eine wesentliche Bereicherung unserer Kenntnisse über diese Bakteriengruppe zu verdanken, indem es ihm ferner gelang, eine neue Gattung, *Clonothrix* (*clon* = Zweig, *thrix* = Haar), reinzuzüchten; er wählte diesen Namen, um dadurch die nahe Verwandtschaft zu *Crenothrix* und *Cladothrix* anzudeuten. Damit bestätigte SCHORLER die von MIGULA in seinem System aufgestellte Behauptung, daß *Cladothrix dichotoma* eine Sammelspecies sei und neben echten Eisenbakterien auch solche Arten, die nicht Eisen speichern, enthalte. Nach SCHORLER zeigt sich bei allgemeiner äußerer Betrachtung das Bild eines *Crenothrix*-Fadens; junge Fäden sind nur ca. 2—3 μ dick, ältere bis zu 5—7 μ, und solche mit Manganspeicherung werden bis zu 24 μ Dicke beobachtet. Außerdem sind die Fäden dichotom verzweigt wie bei *Cladothrix*, die Verzweigungen sind nicht selten und liegen manchmal dicht übereinander; ihre Entstehung dürfte ähnlich wie bei *Cladothrix* verlaufen. Da an der Verzweigungsstelle die Gallertscheide häufig dicker als über oder unter derselben ist, so kommen keulenförmige Anschwellungen zustande. Auch hier trat die bekannte Blaufärbung durch Blutlaugensalz und Salzsäure, wenn auch manchmal etwas langsam, ein. Die Stäbchen oder Zellen in den Fäden sind lang oder kurz zylindrisch bis scheibenförmig und ca. 2 μ dick. Die Länge der Zellen wechselt stark; gewöhnlich sind die Zellen eines Zweiges mit denen im Hauptfaden gleichgestellt. Immer aber sind die Zellen auch ohne Behandlung mit Salzsäure in den Scheiden deutlich wahrnehmbar und vermögen auch aus den letzteren auszuschlüpfen, so daß sie sich wie bei *Crenothrix* in den Absätzen finden. Aus jeder ausschlüpfenden Zelle kann ein neuer Faden entstehen, meistens jedoch scheinen sich die Gonidien aus den flachscheibenförmigen Zellen durch Teilung und Abrundung zu bilden, wobei die Teilungsrichtung parallel zur Längsachse des Fadens resp. Zweiges erfolgt. Diese Gonidien sind es besonders, welche in Verbindung mit der dicken, eisen- und manganhaltigen Scheide und den kurzen scheibenförmigen Zellen die Gattung *Clonothrix* von *Cladothrix* unterscheiden. BÜSGEN (1) und HÖFLICH (1) stellten fest, daß *Cladothrix* niemals derartige kleine, kugelförmige Gonidien oder Mikrokokken sondern

nur einzelne lang zylindrische Zellen des Fadens bildet, die seitlich unter einem Pol ein Geißelbüschel bekommen und als schwärmende Sporen aus dem Faden austreten. Letztere aber kommen weder bei *Crenothrix* noch bei *Clonothrix* vor. Für die einzige bis jetzt gefundene Art
5 *Clonothrix fusca* gibt SCHORLER folgende Merkmale: Fäden und Aeste von wechselnder Dicke, an der Basis mit der Scheide durchschnittlich 5—7 μ dick, an der Spitze sich auf 2 μ verschmälernd, an alten Scheiden mit Manganeinlagerung sind jedoch sogar 24 μ Breite festgestellt worden. Farbe der Fäden je nach dem Alter von farblos bis dunkelbraun
10 wechselnd. Zellen ca. 2 μ dick und gewöhnlich 6—8 μ lang, es kommen jedoch auch Längen von 12—20 μ vor. Dicke der scheibenförmigen Zellen meist größer als 2 μ. Die verzweigten Fäden bilden Räschen bis zu 2,5 mm Länge. Letztere bilden in den Dunkelräumen der Wasserwerke graue bis dunkelbraune und schwarze, lockere Schlammabsätze,
15 ganz so wie *Crenothrix* und häufig in deren Gesellschaft. Bis jetzt nur in einem Wasserwerk von Dresden und Meißen gefunden, wahrscheinlich aber weit verbreitet.

Hiermit dürfte wohl die morphologische Behandlung der Eisenbakterien, soweit unsere Kenntnisse bis jetzt reichen, für die vorliegenden
20 Zwecke genügend erschöpft sein.

§ 54. Morphologie der Gattung Cladothrix.

Uebergehend zu der Gattung *Cladothrix*, muß deren Morphologie in unserer Betrachtung ein etwas breiterer Raum gewährt werden, weil sie in den letzten Jahren genauer untersucht wurde und hierdurch die
25 bis dahin bestandene Unklarheit in der Unterscheidung der Cladotricheen und Streptotricheen, resp. Actinomyceten, behoben worden ist.

Außer FLÜGGE (1), BÜSGEN (1), HUEPPE (1) und MIGULA (1) hat in letzter Zeit ganz besonders K. HOEFLICH (1) diese Gattung bearbeitet,
30 so daß nunmehr ein klares Bild vorliegt.

Alle bis jetzt bekannten Cladotricheen finden sich im Wasser und sind farblose, Eisen oder Schwefel nicht enthaltende Fadenbakterien, deren gleichmäßige Zusammensetzung aus Stäbchen durch Reagentien deutlich gemacht wird (Bildung von Zellverbänden; vgl.
35 Bd. I, S. 98 u. 99). MIGULA und SCHORLER rechnen, wie im vorhergehenden Paragraphen erörtert worden ist, allerdings einzelne, bisher zu *Cladothrix dichotoma* gezogene Formen zu den Eisenbakterien.

Den Charakter dieser Gattung im Gegensatz zu den vorher beschriebenen Eisenbakterien bildet das Vorkommen der falschen oder
40 **pseudodichotomen Verzweigung**, Pseudoramifikation (*Fig. 20*). Diese besteht darin, daß an irgend einer Stelle eines Fadens die Verbindung zweier Zellen sich lockert und die letzteren sich gegeneinander verschieben, worauf die beiden oder auch nur eine der einseitig freiwerdenden Polzellen selbständig weiter wachsen, meist ohne sich an der
45 Teilungsstelle ganz voneinander zu trennen. Hierdurch entstehen vielfach verästelte und verschlungene Fadenmassen, welche jedoch mit den echten Verzweigungen, wie später gezeigt wird, nichts gemein haben, früher jedoch sehr häufig damit verwechselt wurden.

Der zweifelloseste Vertreter dieser Gattung ist neben *Sphaerotilus*
50 *natans*, welcher nach MIGULA (1) und FISCHER (1) auch zu den Cladotricheen

zu rechnen ist, die *Cladothrix dichotoma* COHN oder *Sphaerotilus dichotomus* (COHN) MIGULA. Der Name *Cladothrix* war bereits an eine Phanerogamengattung vergeben, weshalb im streng systematischen Sinne der KÜTZING'sche, übrigens auch ältere Name *Sphaerotilus* vorzuziehen ist. Sie ist in stehenden und fließenden Gewässern, die mehr oder weniger reich an organischen Substanzen sind, häufig anzutreffen und bildet meist 1—3 mm hohe, festsitzende Rasen, kommt aber auch in freischwimmenden Flöckchen vor. Bei ungestörter Entwicklung entstehen schöne, baumartig verzweigte Formen, die durch eine dünne Scheide zusammengehalten werden. Die Fäden sind gleichmäßig aus stäbchenförmigen Gliedern zusammengesetzt, die sich loslösen und einige Zeit frei beweglich sind, bis sie sich mittelst einer von ihnen ausgeschiedenen, schleimigen Substanz festsetzen. BÜSGEN (1) gelang es zum erstenmal, die *Cladothrix dichotoma* rein zu züchten. Nach seinen Angaben wachsen die *Cladothrix*-Fäden in einer nicht zu festen, mit wenig Fleischextrakt versetzten Gelatine ohne merkliche Verflüssigung des Nährbodens zu anfangs kreisrunden, weißen Flocken heran, welche nach einigen Tagen Höfe von Fäden bekommen, die nach allen Seiten ausstrahlen. An den weißen Flocken läßt sich ein opakes Zentrum von einem halbdurchsichtigen Hofe unterscheiden, der in den Strahlenkranz übergeht. In Stichzuchten nimmt die Länge der Fäden von der Oberfläche des Nährbodens nach dessen Innern zu ab, und die Kolonien ragen nicht über die Gelatine hervor. Die einzelnen Kolonien bestehen aus verschieden starken Fadenbündeln und vielfach gebogenen Einzelfäden, die sich durch homogenen, körnchenlosen Inhalt und spärliche Verzweigung auszeichnen und streckenweise in Stäbchenhaufen übergehen. Außen werden die Fäden von einer häutigen Scheide begrenzt, welche an der Fadenspitze offen ist, und innerhalb deren die einzelnen Stäbchenglieder ein ziemlich selbständiges Dasein führen. Es scheint, daß ein jedes wächst und sich quer teilt; den hierzu erforderlichen Raum gewinnt es dadurch, daß es einen Teil der spitzenwärts von ihm befindlichen Stäbchen aus der Scheide hinausdrängt, oder dadurch, daß es an seinem Nachbarstäbchen seitlich vorüber zu wachsen versucht. In letzterem Falle kann durch den Druck die in der Gelatine ohnehin nur schwach entwickelte Scheide eine Zerreißung erfahren, welche zum Austreten von Stäbchen führt (*Fig. 21*). In Wasserzuchten eilen die auf die eine

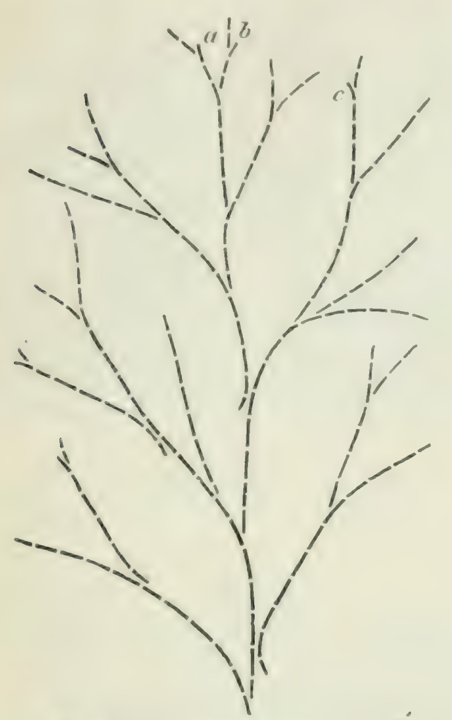


Fig. 20. Schema der falschen Verzweigung bei *Cladothrix dichotoma*. (Aus ZOPF, Spaltpilze.)

oder andere Weise befreiten Einzelzellen oft als Schwärmer davon (s. Bd. I. S. 126). In der Gelatine aber unterbleibt das Ausschwärmen, und es kommen durch Verlängerung und Teilung der ausgetretenen Stäbchen die zooglöaähnlichen Stäbchenhaufen zustande. Nach der Ansicht Büsgen's sind das also nur zufällige, ganz allein durch die bewegungshemmende Wirkung der Gelatine bedingte Bildungen. In üppig wachsenden Zuchten treten häufig Anschwellungen der Fäden auf, welche durch Uebereinanderschieben oder Aneinandervorbeiwachsen der einzelnen Stäbchen, oft unter Sprengen der Scheide, entstehen. Jede Rißstelle einer Scheide kann durch Austreten der Stäbchen der Ursprungsort eines ganzen Büschels neuer Fäden werden, die alle Schwärmstäbchen hervorzubringen vermögen. Bei ruhigem Stehenlassen der Cladothrixzuchten kann Hautbildung in der Weise eintreten, daß schwärmende Stäbchen sich, vertikal nach unten gerichtet, an der Oberfläche der Nährflüssigkeit anheften und zu Fäden auswachsen.



Fig. 21. Cladothrix dichotoma. Cohn. Abgliederung der Schwärmstäbchen am Ende eines Fadens. *s*, die aufgelockerte Scheide; *g*, die Schwärmstäbchen mit ihren seitlich sitzenden Geißeln *c*. Geißelfärbung. — Vergr. 1000. Nach A. Fischer.

Hoeflich (1) berichtet, daß ihm Reinzüchtungsversuche nach sehr vieler Mühe gelungen seien, und teilt mit, daß *Cladothrix dichotoma* zu ihrer Entwicklung nur eine ganz schwache Bouillon verlange (0,5 g Fleischextrakt auf 1 Liter Wasser). Bereits nach 24 Stunden beginnt Wachstum; Optimum 25° C. Die anfangs an der Oberfläche sich bildenden Kolonien sinken allmählich zu Boden und neue treten an deren Stelle. Die Bouillon zeigt selbst auch nach Monaten und stattgehabter reicher Entwicklung keine Verfärbung. Nach demselben Forscher ist die in Rede stehende Art ein obligater Aerobier und wächst im Dunkeln ebenso gut wie im Licht. In betreff des Wachstums auf Gelatine empfiehlt Hoeflich die Verwendung eines 4—4,5 Proz. Gelatine enthaltenden Nährbodens unter Zusatz geringer Mengen von Fleischextrakt. Beim Wachstum hierauf tritt allmählich Verflüssigung ein, und die Gelatine färbt sich ockerartig bräunlich bis fast rauchgrau. Hoeflich stellte mit einer großen Anzahl von Nährböden Züchtungsversuche an, die jedoch meist ohne Erfolg blieben. Seine Befunde zeigen, daß *Cladothrix dichotoma*, wie schon erwähnt, künstlich in schwacher Bouillon und dünnen Gelatinelösungen züchtbar ist, und daß sie auch in gewöhnlichem, sterilisiertem Leitungswasser, wenn auch langsam, wächst. In diesen Nährböden erscheint sie zu weißen, flaumigen Flocken und Büscheln vereinigt, bzw. im Gelatinestich in Form einer Gläserbürste, ohne diffuse Trübung der Nährflüssigkeit. Das Temperaturoptimum liegt zwischen 25—30° C.

Zum Studium der morphologischen Verhältnisse empfehlen sich nach Hoeflich Zuchten auf dem Deckglas im hängenden Tropfen. Eine aus einer mehrtägigen Bouillonzucht entnommene *Cladothrix*-Flocke zeigt dann eine große Anzahl dicht aneinanderliegender, doppelt konturierter, langer, ziemlich breiter, farbloser, fast homogener Fäden, welche bei stärkerer Vergrößerung in ihrem Inneren längliche Körperchen enthalten. Zugeträufelter Farbstoff (wässeriges Gentianaviolett oder Safranin) läßt in der schlauchförmigen Scheide längliche, stäbchenförmige, hintereinander



Fig. 1. Crenothrix aus Brunnenwasser. Aufnahme von Dr. W. LOEB. Oelimmersion $^1/_{12}$ LEITZ, 1000-fach vergrößert.



Fig. 3. Actinomyces odoriferus. Deckglaspräparat aus 8-tägiger Zucht in Bouillon. Oelimmersion $^1/_{12}$ ZEISS, Ocular 4. 1000-fach vergrößert.

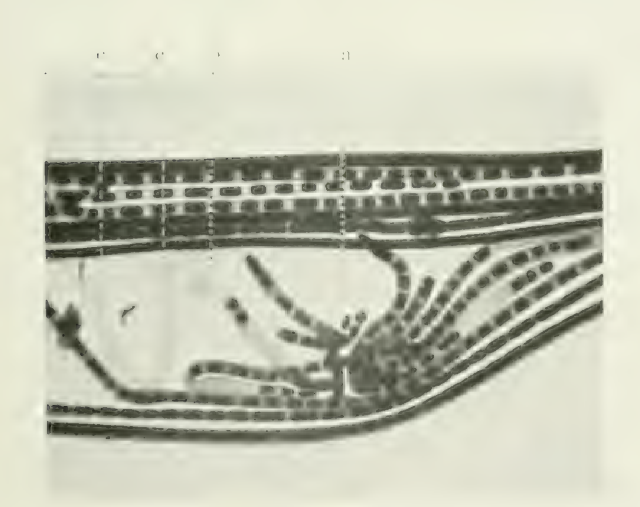


Fig. 2. Cladothrix dichotoma COHN. Deckglaspräparat aus 5-tägiger Zucht in Bouillon von Dr. HOEFLICH. Oelimmersion $^1/_{12}$ ZEISS. 1000-fach vergrößert. Aufnahme von Dr. RÜLKE. a, aus der Scheide freigewordene, zu neuen Fäden auswachsende Glieder. b, noch in der Scheide befindliche Glieder. c, entleerte Scheiden.



Fig. 4. Actinomyces odoriferus. 5-tägige Zucht auf schieferstarrtem Agar-Agar. Natürl. Größe.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.



liegende Glieder erkennen. Am besten und schönsten sichtbar entwickelt sich die Scheide in Bouillonzuchten und wird mit obenerwähnten Farblösungen unter leichtem Erwärmen sehr gute Präparate liefern. Nach dieser Färbemethode angefertigte Präparate aus Reinzuchten und solchen, die im Freien gewachsen sind, zeigen, daß letztere stärker als erstere sind, und es schwankt der Querdurchmesser der Fäden zwischen 2—4 μ. Fast alle Anilinfarbstoffe sind zu verwenden. Während sich die Glieder bei allen gut färben, läßt Methylviolett die Scheiden fast farblos. Die Gliederzellen sind länglich und 2—4 mal so lang als breit. Ihre Länge beträgt 3—8 μ, die Breite 1—2,5 μ. Die Enden sind mehr oder weniger stark abgerundet; liegen sie dicht gedrängt hintereinander, dann drücken sie einander etwas flach ab. Der Abstand der Glieder ist ein sehr verschiedener und kann bis zu mehreren Mikra betragen.

Häufen sich in einer Scheide die Glieder an, d. h. hält die Vermehrung eines Fadens nicht gleichen Schritt mit dem Längenwachstum der Scheide, oder stellt sich ihrer Ausdehnung ein Hindernis entgegen, dann können unter Verschmälerung ein oder mehrere Glieder gleichzeitig an den benachbarten vorbeigleiten, so daß dann öfters zwei Zellen, mitunter von Keil-, Dreiecks- und X-form nebeneinander liegen.

Eine der häufigsten Erscheinungen ist die sogenannte unechte Verzweigung, die als etwas der *Cladothrix* eigentümliches angesehen wird und schon eingangs erwähnt wurde (siehe Schema der falschen Astbildung). Echte Verzweigungen kommen nicht vor. Die Scheide kann ferner da und dort eine spindel- bis kugelförmige Auftreibung erleiden, welche ebenfalls infolge von Verschiebungen in größerer Anzahl neben- und durcheinander liegende Glieder enthalten. Sehr häufig kommt es zu einer Zerreißung der Scheide; es findet dann eine Entleerung von Gliedern statt, die hier sofort zu neuen Gliedern auswachsen, und öfters bildet sich dann an der Austrittsstelle ein schöner, mehr oder weniger gleichmäßiger Strahlenkranz (s. *Taf. VI, Fig. 2*).

Häufig finden sich in den vollkommen entwickelten, ruhenden Gliederzellen kleinere und größere Vakuolen, die jedoch nicht färbbar sind; sie dürften wohl mit der Gliederzelleneinteilung in bestimmtem Zusammenhang stehen. Liegen nämlich zwei Vakuolen in einer Zelle und haben beide eine gewisse Größe erreicht, dann bemerkt man eine feine Querlamelle, welche sich schwach oder gar nicht färbt und eine Art Scheidewand zwischen den gebildeten zwei Tochterzellen darzustellen scheint. Man kann auch in ganz kurzen Fäden Vakuolen antreffen und ebenso können solche in langen Fäden vollkommen fehlen. Einen Zellkern konnte Hoeflich nicht nachweisen; im übrigen stimmen Hoeflich's Anschauungen in betreff der Vermehrung und Ausbreitung der *Cladothrix* mit den von Büsgen mitgeteilten überein. Danach ist sicher, daß sie festsitzende Fäden und Rasen bildet, die aus stäbchenförmigen, ovalen oder länglichen und hintereinander liegenden Gliedern und einer sie umschließenden Scheide bestehen, niemals treten Spirillen und Kokken auf, sondern nur Lang- und Kurzstäbchen. Die Vermehrung erfolgt durch bewegliche Gonidien, welch letztere sich durch ein dicht unter dem einen Pole stehendes seitliches Geißelbüschel auszeichnen.

Die bisherige *Cladothrix ochracea* Kützing wird nunmehr als *Chlamydothrix ochracea* bezeichnet und ist als solche bei den Eisenbakterien angeführt worden. Es sei hier auch noch darauf hingewiesen, daß die von Fischer (2) und anderen Forschern z. B. auch aus Wasser gezüchteten und noch als *Cladothrix* beschriebenen Organismen jetzt als

Streptotricheen, bzw. Actinomyceten erkannt sind und darum erst später (im § 55) erwähnt werden können. Ebenso verhält es sich mit *Cladothrix intricata* oder *Bacillus intricatus*, beschrieben von Russel, welcher sich durch Fehlen einer Scheide auszeichnet, während die falsche Verzweigung dieselbe ist. Migula (1) hebt hervor, daß die Zellen in einer eigentümlichen Art wachsen. Auf Zuchten auf Kartoffeln und Agar finden sich echte Endosporen, welche sich durchaus nicht von dem bei irgend einer anderen Bakterienform auftretenden Typus unterscheiden. Aus einer Mitteilung von Migula ergibt sich, daß eine von ihm untersuchte Originalzucht von *Bacillus intricatus* bewies, daß solcher nicht hierher gehört, da dieser Organismus ein echter Bazillus sei und die Laboratoriumszuchten gar nicht dem genannten entsprechen.

Ganz zweifellos ist aber als hierhergehörig *Sphaerotilus natans* zu erwähnen, welcher sowohl von Fischer als auch von Migula (s. Bd. I, S. 144 u. 145) mit *Cladothrix* zur gleichen Gattung gerechnet wird. Er kommt in stehenden oder fließenden, verunreinigten Wässern vor und bildet schleimige, teils festsitzende, teils freiflutende Flocken von schmutzig-weißer bis gelbbrauner Farbe: unter dem Mikroskope lösen sich die Flocken in Bündel von Fäden auf. Diese letzteren bestehen aus etwas abgerundeten, zylindrischen Zellen, welche im Jugendzustande aneinander schließen, später aber durch einen weiteren Zwischenraum sich voneinander trennen. Die Zellen dieser Art sind denen von *Sphaerotilus* (*Cladothrix*) *dichotomus* sehr ähnlich, auch ebenso dick (ca. 2 μ), aber selten so aneinander gedrängt, wie bei jenen. Bei *Sphaerotilus natans* aber ist im Gegensatz zu dem ebengenannten die Scheide äußerst zart und schleimig, nicht fest, überhaupt schwer erkennbar und färbt sich auch bei Anwendung der kräftigsten Farbstoffe kaum merklich. Auch kommt es oft vor, daß die Zellfäden trotz der weichen Scheide nicht durchbrechen, sondern auf weite Strecken nebeneinander herwachsen, so daß sie stellenweise bündelig zusammenliegen und von einer gemeinsamen Scheide umschlossen werden. Schließlich sondern alle Fäden wieder eine eigene Scheide ab, während sich die ursprüngliche Scheide allmählich auflöst. Die Bildung von schwärmenden Gonidien ist aber genau die gleiche wie bei *Cladothrix dichotoma*. Auch hier sind die Gonidien mit einem subpolaren Geißelbündel versehen. Eine von Eidam (1) beobachtete eigentümliche Form der Fortpflanzung bedarf nach Migula (1) noch weiterer Bestätigung.

§ 55. Morphologie der Gattung Streptothrix resp. Actinomyces.

Wir gelangen nun auf eines der in der Bakteriologie am meisten umstrittenen Gebiete. Bis vor kurzem herrschte hier noch eine völlige Unsicherheit in der Bestimmung, und erst der letzten Zeit war es vorbehalten, in die eigentlich ganz einfache Frage endgültig Klarheit zu bringen. Die Verwirrung war um so größer, als man auch noch die oben erwähnte Familie der Cladotricheen mit in dieses Durcheinander gezogen hatte. Bevor wir den jetzt in dieser Frage maßgebenden Standpunkt klarlegen, dürfte es in einem Werke wie dem vorliegenden angebracht sein, aus den bisherigen Anschauungen eine Auswahl wiederzugeben, um an deren Hand das bestehende Durcheinander zu begreifen.

Eine der ersten eingehenden Beschreibungen verdanken wir Sauvageau und Radais (1). Nach ihnen wird mit *Cladothrix* ein Bakterium be-

zeichnet, welches sich durch den Besitz einer Scheide mit Querwänden und falsche Verzweigung auszeichnet. *Streptothrix* Cohn (1) aber besitzt keine Scheide und verzweigt sich nach Art eines Mycels. Während nach diesen Forschern die verschiedenen *Streptothrix*-Arten sich nur wenig in ihren mikroskopisch wahrnehmbaren Eigenschaften unterscheiden, tritt solches um so stärker in ihren Zuchten ein; ferner sagen sie bereits, daß die Streptotricheen den Gattungsnamen *Oospora* nach Wallroth erhalten sollen und zu den Hyphomyceten, und zwar zu der Gruppe der Mucedineen (s. Bd. I, S. 215), gehören. *Actinomyces* Harz aber stimme vollkommen mit *Streptothrix* Cohn überein und müßte daher auch als *Oospora* und zwar *Oospora bovis* bezeichnet werden.

Johan-Olsen (1) ist der Anschauung, daß sowohl *Tuberculomyces* wie auch *Actinomyces* als *Streptothrix*-Arten aufzufassen seien. Er steht, unterstützt durch Brefeld's (1) unbestreitbare Autorität, auf dem Standpunkte, daß die meisten Bakterien nur Anpassungsformen seien und nicht als selbständige Spezies aufgefaßt werden müßten, und Brefeld (1) selbst sagt, daß Parasitismus nichts anderes sein könne als eine nach der Länge der Zeit mehr oder minder angepaßte aber darum noch keineswegs konstant gewordene Lebensform. Auch bei *Actinomyces* zeige es sich, wie später mehrfach bewiesen, daß die Formen innerhalb des Organismus keineswegs dieselben sind wie außerhalb, da er, saprophytisch gezüchtet, die typische *Streptothrix*-Form aufweist. Olsen gelang es im Jahre 1889, einen für Kaninchen nicht pathogenen *Actinomyces aureus* aufzufinden, welcher in Gelatine typische Strahlenkolonien bildete und von *Actinomyces bovis* innerhalb des Körpers kaum zu unterscheiden war, in flüssigen Nährböden aber Stäbchen bildete, welche zuerst unverzweigt waren, dann aber Verzweigungen mit typischen Luftgonidien hervortrieben.

Jedenfalls aber bilden die *Streptothrix*-Arten hierdurch eine Art Formenübergang von Mycelpilzen zu echten Bakterien. Sie unterscheiden sich besonders durch ihre Luftgonidien in älteren Zuchten, dann durch das fein verzweigte Mycel, sowie durch ihren ausgeprägten Schimmelgeruch und bei einzelnen Arten einen ganz unbestreitbaren „Erdgeruch", auf welchen noch eingehend zurückzukommen sein wird.

Weichselbaum (1) bezeichnet sie als eine Gruppe von Mikroorganismen, welche gewissermaßen eine Mittelstellung zwischen Bakterien und Fadenpilzen einnehmen. Sie bestehen gleich den letzteren aus dichotomisch verzweigten Fäden, welche sich zu einem schon dem freien Auge sichtbaren Komplexe, einem Mycel, vereinigen. Einzelne der Fäden erheben sich auch, ähnlich den Fruchtträgern der Fadenpilze, frei in die Luft und zerfallen in rundliche Zellen (Sporengonidien), welche, wenn sie von der Luft fortgetragen werden, zur Entstehung einer neuen Pflanze führen. Die Aehnlichkeit mit Bakterien äußert sich darin, daß die Fäden sehr fein sind und namentlich bei längerem Bestehen in Glieder von Kugel-, Stäbchen- und Spirillenform zerfallen. Eine häufige Erscheinung ist ferner das Auftreten von kolbigen Anschwellungen der Fäden, besonders ihrer Enden, die aber nicht als Fruktifikationsorgane sondern als Degenerationserscheinungen anzusehen sind. Durch diese Anschwellungen nähern sie sich insbesondere den Tuberkel- und Diphtheriebazillen, bei welchen auch Verzweigungen und ein Zerfall in Glieder beobachtet wurde.

A. Fischer (2) äußert sich über die Stellung der Streptotricheen im System dahin, daß man mit dem Namen *Streptothrix* alle auf den ge-

wöhnlichen Nährböden der Bakteriologie gedeihenden, sehr zartfädigen Pilzmycelien bezeichne, deren Zugehörigkeit zu wohlbekannten Schimmelpilzen sich einst sicher herausstellen werde. Auch die am genauesten untersuchte *Streptothrix Actinomyces* scheine in der Zucht ihren Entwicklungsgang noch nicht vollendet zu haben. Der feinfädige Vegetationskörper dieses Organismus ist aus zylindrischen Gliedern zusammengesetzt, genau wie ein Pilzmycelium, und bildet auf festen Nährböden (Agar, Blutserum) dichte Knäuel verflochtener und durcheinander gewirrter Mycelfäden, von denen auch ein weißlicher Flaum zarter Luftfäden, welche Gonidien bilden, emporwächst. Jedoch scheint die Gonidienfruktifikation noch weiteren Vergleiches mit der bei anderen Hyphomyceten zu bedürfen.

Bostroem (1), M. Wolff (1), J. Israel (1) und Afanassjeff (1) zählen irrtümlich *Actinomyces* zu den pleomorphen Bakterien, und hier zu der Gruppe *Cladothrix*.

Die vorstehenden Ausführungen beweisen zur Genüge die bisherige Unsicherheit in der Bezeichnung der hierher gehörigen Organismen; es ist daher umso erfreulicher, daß jetzt endlich Harz mit seiner Ansicht über diese Familien durchgedrungen ist, der sich Berestneff (1), Lubarsch (1), Gasperini (1) Lachner-Sandoval (1) u. a. angeschlossen haben. Lehmann und Neumann (1) haben jetzt auch in der neuesten Auflage ihres Handbuches diese Nomenclatur angenommen. Harz (1) klärt mit wenigen Worten die verwickelte Lage auf. Nach ihm begründete Corda im Jahre 1839 die Gattung *Streptothrix* zunächst durch eine Art, die *Streptothrix fusca* Corda. Wie aus der nebenstehenden *Fig. 22* ersichtlich ist, hat man es hier mit einem zweifellosen Schimmelpilz zu tun, aus dessen Mycel sich baumartig verzweigte, aufrechte Hyphen erheben. Diese zeigen meist einen sympodialen Aufbau und tragen teils sitzende, teils gestielte Sporen (Gonidien). Es handelt sich also hier um wirkliche Schimmelpilze, wie *Aspergillus glaucus*, *Penicillium crustaceum* u. a. Nun wurde die entstandene Verwirrung durch mehrere Forscher hervorgerufen, welche ganz andere Organismen, Fadenbakterien, als *Streptothrix* bezeichneten und dabei übersahen, daß Corda schon lange Jahre vorher diesen Namen vergeben hatte.



Fig. 22. Streptothrix fusca Corda.

Infolgedessen werden wir also von jetzt an alle bisher als *Streptothrix* beschriebenen pathogenen und nicht-pathogenen Arten, mit Ausnahme der vorstehend abgebildeten, nunmehr unter dem Namen *Actinomyces* = Strahlenpilz führen, da die Arbeiten von Gasperini,

Domec (1), sowie die von Sauvageau und Radais (1), alle aus dem Jahre 1892, diese Frage nach dem von Harz (1) aufgestellten Satze lösten.

Die Gruppe der Actinomyceten zeichnet sich bei ihrem Wachstum auf festen Nährböden durch Bildung von erhabenen Kolonien aus, welche von derber Beschaffenheit und mehr oder weniger knorpelig-faltig sind und fest in dem Nährboden anwachsen. Sie bilden sämtlich lange, dünne, gestreckte Mycelfäden mit (s. *Taf. VI Fig. 3*) echten monopodialen Verzweigungen. Die Breite der Fäden beträgt 0,6 μ, die Länge bis 200 μ und mehr. Die verschiedenen Arten unterscheiden sich durch ihr Verhalten auf den angewendeten Nährböden und wachsen auf diesen unter Bildung oft lebhaft gefärbter Kolonien. Alle nehmen Anilinfarbstoffe gut auf, ganz besonders aber verdünntes Karbolfuchsin; für Differenzierung empfiehlt sich die Gram'sche oder die Weigert'sche Fibrinfärbemethode. Junge Zuchten zeigen häufig nur unverzweigte Stäbchen, die sich durchaus nicht von den gewöhnlichen Spaltpilzen unterscheiden. Die Fortpflanzung erfolgt, außer durch Gonidienfruktifikation, durch Teilung des Fadeninhaltes und Querteilung von Fadenstrecken; einzelne Arten zeichnen sich durch ein auffälliges, flockiges Luftmycel aus. Die alte Wallroth'sche Bezeichnung *Oospora* kann gar nicht in Betracht kommen, da sie sich auf ganz andere, höhere Schimmelpilze bezieht.

In betreff der Fortpflanzung ist die Gonidienfruktifikation von größter Wichtigkeit, ebenso die Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen und Austrocknen. Nach Kruse (1) ist es noch zweifelhaft, ob ein prinzipieller Unterschied zwischen der Segmentation (Sporenbildung) in Luftfäden und der Fragmentation in feuchtem Nährboden besteht. So ziemlich für alle *Actinomyces*-Arten ist die mit dem Alter der Zucht sich steigernde weiße, kreideähnliche Verfärbung (s. *Taf. VI Fig. 4*) der einzelnen Kolonien charakteristisch, indem sich ein verzweigtes Mycel mit reichlichen Luftfäden bildet; diese Kolonien erhalten sich lange Zeit fortpflanzungsfähig. Ferner sind alle Arten sehr schwer von den Nährböden zu entfernen, und ebensolche Schwierigkeiten bereitet die Verteilung auf Deckgläsern behufs Darstellung mikroskopischer Präparate.

In vielen Fällen unterliegt die Membran der Actinomycesfäden eigentümlichen Veränderungen, die früher mißdeutet und erst durch Bostroem (1) und Babes (1) richtig erkannt wurden. Es entstehen nämlich häufig an den Enden, aber auch in der Mitte der Fäden, durch Vergallertung der Membran keulen- oder kolbenförmige Anschwellungen, in deren Zentrum durch Färbung die Fäden meist noch sichtbar gemacht werden können; sie sind als Degenerationserscheinungen aufzufassen (s. *Fig. 23*). Die Fäden selbst teilen sich durch fortgesetzte Querteilung in Fadenstücke, welche als längere und kürzere Stäbchen erscheinen, die wieder weiter in kleine, rundliche, mikrokokkenähnliche bzw. sporoide Formen übergehen. Alle diese Gebilde eines Actinomycesrasens stehen in engster genetischer Beziehung zu einander.



Fig. 23. *Actinomyces*-Kolben mit sporenhaltigen Fäden. — Nach Lehmann und Neumann.

In betreff des Vorkommens der Actinomycesarten sind außer der Luft, der Erde und dem Wasser noch die Gräser und damit auch

die Getreidegrannen, Strohhalme usw. als ihr Aufenthaltsort zu erwähnen, und gerade in einem Werke wie dem vorliegenden ist ganz besonders darauf aufmerksam zu machen, daß schon häufig schwere Erkrankungsfälle bekannt wurden, welche ihren Grund darin fanden, daß durch Stochern mit Strohhalmen und Gräsern im Munde und besonders an den Zähnen Pilzmengen eingeführt wurden und zu Erkrankung in Form von Actinomykose Veranlassung gaben. Es wäre wünschenswert, daß landwirtschaftliche Lehrer hierauf aufmerksam machten, denn die Erfahrungen, daß die Actinomyceten durchaus nicht als harmlos zu bezeichnen sind, mehren sich immer mehr, da sowohl Menschen als auch Haustiere befallen werden, wie solches schon lange beobachtet worden ist.

Bang (1) wies nach, daß der Strahlenpilz an Getreide, Korn und Stroh sehr gut gedeiht und sich an Getreidegrannen erwiesenermaßen über ein Jahr entwicklungsfähig erhalten kann. Berestneff (1) hat zuerst die Strahlenpilze außerhalb des tierischen bzw. menschlichen Körpers an trocknen Gräsern nachgewiesen, indem er Heu, Aehren oder Stroh mit sterilem Wasser anfeuchtete und in eine mit sterilisiertem, befeuchteten Sand gefüllte große Doppelschale einspießte. Nach einigen Tagen waren bei 22—25° weißliche, pulverisierter Kreide ähnliche Kolonien entstanden: es gelang so Berestneff die Reinzüchtung mehrerer Arten. In einer neueren Arbeit weist auch Cranwell (1) darauf hin und berichtet ergänzend, daß auch durch Pflanzenstaub und Verletzungen durch Dornen Actinomykose entsteht.

Infolge der früher auf diesem Gebiete herrschenden Unsicherheit in der Bestimmung wurden zweifellose Strahlenpilzarten irrtümlich zu den Cladotricheen und Streptotricheen gerechnet und als solche beschrieben; so von den hier allein in Betracht kommenden nicht-pathogenen die *Streptothrix invulnerabilis*, welche von Acosta und Grande Rossi (1) in Flußwasser gefunden wurde. Ferner u. a. die früher als *Cladothrix liquefaciens* und jetzt als *Actinomyces albus* Rossi-Doria bezeichnete, sowie die von Rullmann (1 u. 2) zuerst in Fehlböden, dann in den verschiedensten Erden gefundene und irrtümlich als *Cladothrix odorifera* beschriebene, deren Zuchten zur Abscheidung des Trägers des „Erdgeruches“ dienten. Während *Actinomyces invulnerabilis* und *A. albus* die Gelatine verflüssigen und bräunen, färbt und verflüssigt *Actinomyces odorifer* nicht; allenfalls tritt nach 2—3 Monaten eine nur oberflächliche Verflüssigung ein. Als weitere Luft- und Erdebewohner sind noch anzuführen *Actinomyces Hofmanni*, *A. violaceus*, *A. citreus*, *A. aurantiacus*, *A. carneus* usw.

Die Betrachtung der Morphologie dieser Gattung kann aber nicht abgeschlossen werden, ohne noch eine erst kürzlich erschienene Arbeit von Fr. Sanfelice (1) zu erwähnen. Sie zeigt einerseits, daß dieser Forscher auf dem bisher eingenommenen Standpunkt in der Nomenclatur leider immer noch beharrt, indem er sagt: „*Actinomyces* ist gemäß seiner morphologischen und bei der Züchtung sich offenbarenden Eigenschaften eine wahre und eigentliche *Streptothrix*.“ Die Unrichtigkeit dieser Anschauung ist ja aber wohl in diesem Paragraphen hinreichend klargelegt worden. Anderseits aber beweisen die weiteren Ergebnisse dieser Arbeit, wie sehr es angezeigt ist, gerade im vorliegendem, auch für Landwirte bestimmten Werke auf diese Gattung aufmerksam gemacht zu haben, weil Sanfelice ganz besonders auf die im wesentlichen von Gasperini zuerst nachgewiesene Tatsache hinweist, daß mehrere der bisher als unschädlich angesehenen Actino-

myceten pathogene Wirkung erlangen können, und da die meisten von ihnen, wie schon angeführt, in der Atmosphäre und in der Erde vorkommen, können sie sich von da aus auf Gegenstände verschiedenster Art, Pflanzen usw., niedersenken und daher zur Infektion beitragen. Diesem Forscher zufolge ist es erwiesen, daß die Rinderactinomykose 5 nicht ausschließlich dem *Actinomyces bovis* allein sondern mehreren ganz bestimmten Arten dieser Gattung zuzuschreiben ist. Reingezüchtet wurden als Erreger: *Actinomyces albus*, *A. sulfureus* und *A. luteo-roseus*. Als vollkommen unschädlich bezeichnet er nur *A. asteroides* und *A. carneus*; denn das empfindlichste aller Versuchstiere, das Meer- 10 schweinchen, wurde von diesen beiden nicht krank gemacht.

Die eigentümliche Farbstoffbildung auf künstlichen Nährböden als ein Merkmal für die Unterscheidung der Arten zu benutzen, hält SANFELICE nicht für angängig, weil sich ergeben hat, daß lange fortgesetzte Uebertragung einer Art auf denselben Nährboden zu ganz 15 wesentlicher Aenderung des anfänglichen Farbentones führen kann.

§ 56. Physiologie der Eisenbakterien.

Wir haben bereits im § 53 bemerkt, daß der Einblick in den Aufbau der Eisenbakterien durch die Anwesenheit rotbrauner, aus Eisenoxyd bestehender Massen, welche die Scheiden durchdringen und um- 20 geben, erschwert wird. Gerade diese Eigenschaft ist aber auch für die in Rede stehenden Mikroorganismen charakteristisch und erleichtert so anderseits deren Erkennung und Auffindung. Da unter gleichen Bedingungen andere derartige Organismen dieses Merkmal nicht zeigen, so kam COHN (1) auf die Vermutung, daß solches mit der Lebenstätig- 25 keit dieser Fadenbakterien im innigen Zusammenhange stehe und daß das Eisenoxyd sich in deren Scheiden in ähnlicher Weise wie die Kieselerde in den Diatomaceenschalen ablagere. WINOGRADSKY erbrachte den Beweis für die Richtigkeit dieser Ansicht und widerlegte die gegenteilige ZOPF's, welcher für die mechanische Niederschlagung eintrat. 30 Einige Jahre später veröffentlichte MOLISCH (1) eine Arbeit, welche vielfach wieder im Gegensatz zu WINOGRADSKY steht; auf dieselbe wird am Ende dieses Paragraphen eingegangen werden.

Die im § 53 genannten wichtigsten Vertreter der Eisenbakterien wie auch die übrigen, finden sich besonders reichlich in Wässern, in 35 denen Eisen nicht als Oxyd, sondern als lösliches, doppeltkohlensaures Oxydul, $FeH_2(CO_3)_2$ vorhanden ist. Die den tieferen Erdschichten entspringenden Eisenquellen bringen diese Verbindung schon fertig gebildet mit; in den Tagwässern entsteht sie bei der Verwesung der Pflanzen, deren Eisengehalt, wie auch der des Wassers selbst, 40 während der Cellulosevergärung zu Hydrokarbonat umgewandelt wird. Dieses wird von den hier in Rede stehenden Bakterien auf dem Wege der Diffusion aufgenommen und zufolge WINOGRADSKY (1) nach folgender Gleichung oxydiert:

$$2\,FeCO_3 + 3\,H_2O + O = Fe_2(OH)_6 + 2\,CO_2 \qquad 45$$

Sodann lagert sich das Eisenoxyd in der Scheide ab, wobei die anfangs blaß-gelbliche Färbung allmählich in dunkles Braun übergeht. Bekanntermaßen ist frisch gefälltes Eisenoxydhydrat in Wasser etwas löslich, später aber geht es in eine Modifikation über, welche nur noch

von verdünnten Säuren angegriffen wird, und gerade diese Umwandlung ist bei den jungen Bakterienfäden zu verfolgen. Anfänglich lassen sich die gelb gewordenen Scheiden durch Behandeln mit kohlensaurem Wasser entfärben, später muß man jedoch schon zu verdünnter Salzsäure greifen, und in einem noch späteren Zeitpunkte genügt auch diese nicht mehr, um der Scheide die braune Eiseneinlagerung zu entziehen. Junge Scheiden mit noch löslicher Eiseneinlagerung geben eine hübsche Berlinerblau-Reaktion, wenn man zu ihnen Salzsäure und Ferrocyankalium vereint zutreten läßt, wodurch das Eisenoxydhydrat gelöst und sofort in Berlinerblau übergeführt und niedergeschlagen wird. Bei älteren Fäden hat die mächtige Eisenoxydeinlagerung die Struktur der von ihnen umgebenen Zellen durch dicke Krusten verdeckt.

Während einer gewissen Zeit hindurch waren Winogradsky's Befunde die allein anerkannten; sie lassen sich durch nachfolgende fünf Sätze ausdrücken: 1. Die Braunfärbung der Scheiden der Eisenbakterien kommt nur in eisenoxydhaltigem Wasser durch Oxydation des Oxyduls in der Substanz der Fäden zustande. 2. Die Oxydation ist eine Lebenserscheinung und hat ausschließlich im Protoplasma ihren Sitz. 3. Für das Wachstum der Eisenbakterien ist Eisenoxydul unentbehrlich. 4. Die Lebensprozesse der Eisenbakterien werden ausschließlich oder hauptsächlich auf Kosten der bei der Oxydation von Eisenoxydul zu Oxyd freiwerdenden Wärme (aktuelle Energie) in Gang erhalten. 5. Die Entstehung von Sumpf-, See-, Wiesen- und Rasen-Eisenstein ist höchstwahrscheinlich auf die Tätigkeit dieser Organismen zurückzuführen.

Dieser Anschauung gegenüber ist durch Molisch (1) im Jahre 1892 und später dann auch durch Adler (1) gezeigt worden, daß die Eisenbakterien auch dann ganz gut gedeihen, wenn man ihnen keine Gelegenheit zur Eiseneinlagerung gibt, und es gelang Molisch, die *Leptothrix ochracea* durch mehrere Generationen hindurch in eisenfreier Lösung zu züchten. Zweifellos aber vermögen die Eisenbakterien, falls sie lösliche Eisenverbindungen zur Verfügung haben, diese reichlich in ihren Gallertscheiden anzuhäufen: nur spielt dabei das Eisen nicht die von Winogradsky angenommene Rolle, sondern es steht zu den Eisenbakterien in dem gleichen Verhältnisse wie etwa die Kieselsäure bei den Diatomeen. Abgesehen von ihrer intensiveren Braunfärbung fallen die in eisenhaltiger Nährlösung gezüchteten Eisenbakterien durch ihre viel dickeren Gallertscheiden auf. Ferner lassen Molisch's Befunde berechtigte Zweifel über die Tätigkeit des Protoplasmas bei der Oxydation zu, da nach ihm bei der Eisenspeicherung die Gallerthülle die Hauptrolle spielt und wie ein Filter arbeitet, auf welchem die aufgenommenen Eisenverbindungen zurückgehalten, gespeichert und wenn notwendig oxydiert werden, ohne vorher erst in das Innere der Zellen oder, genauer gesagt, in das Plasma einzutreten. Daß die Eisenbakterien auch eine große Anziehung für gewisse lösliche Manganverbindungen haben, ist festgestellt, und es ist dabei beobachtet worden, daß die Gallertscheiden soviel Manganoxyd aufnehmen, daß die Breite der Fäden dadurch auf 5—10 μ und darüber ansteigen kann.

Während Molisch zu seinen Züchtungsversuchen eine vollkommen eisenfreie Lösung, welche geringe Mengen von Calcium- und Kaliumnitrat, Kaliumphosphat und Magnesiumsulfat enthielt, verwendete, hat O. Roessler (1) beobachtet, daß *Crenothrix polyspora* u. a. sich auch auf Ziegelsteinen züchten läßt, denen nur eine Spur Eisensulfat zugesetzt

ist. Nach anderer Quelle befördern ganz geringe Mengen von essigsaurem Natron die Entwicklung.

Auch in betreff der Tätigkeit der Eisenbakterien bei Entstehung der großen Eisenerzlager verdankt man Molisch (1) sehr eingehende Untersuchungen. Er prüfte 34 Erzproben verschiedenster Herkunft, und es gelang ihm nur in zwei sibirischen und einer preußischen Probe die Leiber von Eisenbakterien zu finden, so daß er hieraus den Schluß zog, daß die Entstehung der Eisenerze nicht ursächlich an die Tätigkeit dieser Bakterien geknüpft sei, sondern daß jene in der Regel ohne Mitwirkung dieser Organismen von statten geht, daß aber diese letzteren sich unter Umständen an der Entstehung und Zusammensetzung der Eisenerze beteiligen, ja sogar hervorragenden Anteil an ihr nehmen können.

Die im morphologischen Teile angeführten neuen Arbeiten brachten auch für die physiologische Betrachtung reiches Material. Daß die Eisenbakterien neben Eisenoxydhydrat auch Mangan in größerer Menge aufzunehmen vermögen, ist schon auf vorhergehender Seite angeführt und im Jahre 1892 durch Molisch (1) nachgewiesen worden, ebenso wie auch die starke Verdickung der Scheiden durch Manganaufnahme schon länger bekannt ist. Jackson (1) aber ermittelte neuestens, daß *Crenothrix* in den Scheiden 33,9 Proz. Manganoxyd gegen 14,4 Proz. Eisenoxyd aufzuspeichern vermag, und daß eine solche *Crenothrix* viel dicker und plumper sei, wurde schon am zugehörigen Orte angeführt. Nun haben auch Beythien, Hempel und Kraft (1) ebenso wie von Raumer (1) zu beweisen gesucht, daß das Wachstum der Eisenbakterien durch den Mangangehalt des Wassers gefördert wird. Während nach ihnen der Eisengehalt der Scheiden zwischen 5,85—8,94 Proz. schwankt, erreicht der Mangangehalt eine Höhe von 30,49—66,59 Proz. Das Verhältnis von Eisen zu Mangan in den Brunnen ist gleich 1 : 4 bis 1 : 5; in den Hochbehältern jedoch steigert sich der Mangangehalt auf mehr als das Doppelte und stellt sich Eisen zu Mangan wie 1 : 11.

Sehr interessante Aufschlüsse hat ferner Adler über die mangelnde Haltbarkeit der natürlichen Eisenwässer gemacht, indem er anführt, daß man dieselbe bis vor zwei Jahren durch die Annahme erklärte, daß das in den Wässern enthaltene kohlensaure Eisenoxydul beim Füllen und Aufbewahren derselben durch Verlust ausströmender Kohlensäure geschädigt werde, wodurch ein Ausfallen des Eisens in Form von Eisenoxydhydrat bedingt sei. Man versuchte daher die in Frage kommenden Eisenwässer vor dem Entweichen von Kohlensäure zu schützen, jedoch ließen die erzielten Resultate trotz aller verwendeten Vorsicht vieles zu wünschen übrig, so daß sogar die Verwendung kohlensaurer Wässer überhaupt in Frage gestellt wurde. Der neueren Zeit war es vorbehalten, zwei Beobachtungen anzustellen, welche auch in dieser Hinsicht eine Aenderung der bisherigen Anschauung hervorriefen, indem Binz (1) nachwies, daß zwischen dem Ausfallen des Eisens und dem Verluste an Kohlensäure keine prozentische Uebereinstimmung besteht, und Adler (1) bewies, daß durch Zusatz von Stoffen, welche das Wachstum von Mikroorganismen verhindern, die Haltbarkeit der natürlichen Eisenwässer wesentlich erhöht wird. Gerade der letzterwähnte Punkt deutet daraufhin, daß neben den rein chemischen auch biologische Momente beim Ausfallen des Eisens in diesen Wässern eine hervorragende Rolle spielen. Bei diesen Untersuchungen fand Adler die ihm

damals noch nicht bekannte, von EHRENBERG entdeckte und von MIGULA morphologisch charakterisierte *Gallionella* (*Chlamydothrix*) *ferruginea*, die schon auf S. 194 beschrieben worden ist. ADLER verwendete bei seinen Versuchen hauptsächlich solche antiseptische Stoffe, welche sich
5 dem kohlensauren Eisenoxydul gegenüber möglichst indifferent verhalten, und konnte so durch Zusätze von Kampfer, Alkohol, Antipyrin, Chinin, Formaldehyd und Sublimat ein Ausfallen des Eisens im Karlsbader Eisenquellwasser mehrere Wochen lang hintanhalten, während die ohne Zusatz gehaltenen Kontrollflaschen schon nach 4—5 Tagen fast das
10 ganze Eisen in Form von Eisenoxydhydrat am Boden und den Gefäßwänden niedergeschlagen hatten. Dieser Prozeß des Niederschlagens geht auch ohne Beteiligung von Mikroorganismen vor sich, wird aber durch die Anwesenheit der *Gallionella ferruginea*, wie bewiesen, erheblich beschleunigt. Ob diese Niederschlagung durch eine durch die Mikro-
15 organismen hervorgerufene alkalische Reaktion oder durch Ausscheidung eines bestimmten Stoffes, etwa einer Oxydase, bedingt ist, kann vorläufig noch nicht bestimmt geäußert werden. Weitere Untersuchungen über diesen für die therapeutische Verwendung der Eisenwässer so wichtigen Punkt wären sehr erwünscht, da ja selbstverständlich bakterien-
20 hemmende antiseptische Zusätze bei den zum medizinischen Gebrauche dienenden Eisenwässern ausgeschlossen sind.

Naturgemäß sind mit dem üppigen Wachstum dieser Organismen, insbesondere der *Crenothrix*, in den natürlichen Wasserläufen und Becken auch Schädigungen verknüpft, die für den Wasserbau zur wahren Plage
25 werden können, indem sie in den Klärbecken und Wasserleitungsröhren sich ansiedeln und schließlich, dem Wasser den Weg versperrend, die Leitung zum Stillstand bringen. Derartige Fälle werden durch GIARD aus Lille und von ZOPF aus Berlin und Umgebung berichtet. Ein auch im größten Maßstabe anwendbares Hilfsmittel zur Vermeidung dieses Uebel-
30 standes ist die Befreiung des Wassers von seinem Gehalt an Eisenoxydul, wofür SALBACH und PIEFKE die Einleitung des Wassers auf Kokstürme empfehlen, um hierdurch eine Oxydation herbeizuführen und das ausgeschiedene Eisenoxyd mechanisch durch Seihevorrichtung zu entfernen. Auch kann man nach System OESTEN (1) das Wasser zum Enteisenen frei
35 durch die Luft fallen oder auch über Mauersteine und Holz (System der Tegeler Wasserwerke bei Berlin) rieseln lassen. SCHORLER schlägt als Schutzmaßregel gegen das Ueberwuchern der *Crenothrix* ein öfteres Entfernen des crenothrixhaltigen Schlammes auf dem Brunnenboden durch Entfernen mittels Schlammschöpfers oder Absaugen und Ausbaggern vor,
40 weil hierdurch außer den Keimen auch die organische Substanz der Fäden und die eisen- und manganhaltigen Scheiden entfernt werden. Da ferner durch Kalken des Brunnens eine Abtötung und durch mechanische Reinigung der infizierten Röhren eine Beseitigung der Keime zu erzielen ist, so dürfte die Wasserpest ihren Schrecken verloren haben.
45 Auch sei VON RAUMER's Beobachtung noch erwähnt, daß Klagen über Eisenausscheidungen bei Wasserleitungen nur dann einliefen, wenn es sich um Grundwasser handelte, solches aber bei Quellwasser nicht oder nur selten eintrete.

§ 57. Der Erdgeruch und dessen Erreger.

Bekannt ist ja jedermann der eigentümliche Geruch der Ackererde, wie er insbesondere beim Befeuchten durch Regen und beim Umpflügen im Frühjahre und Herbst hervortritt. Den Untersuchungen von Berthelot und André (1) zufolge führte man ihn auf eine in dem Boden enthaltene organische, neutrale Verbindung zurück, die, mit den Wasserdämpfen sich verflüchtigend, beim Umackern dann bemerkbar wird. Jetzt aber wissen wir, daß die Erzeugung dieses „Erdgeruches" allein auf bakterieller Tätigkeit beruht, und Rullmann (1) war der erste, welcher dies in bestimmter Form nachweisen konnte. Er gewann ein Bakterium in Reinzucht, welches er zuerst (im Jahre 1893) irrtümlich zu den Cladotricheen rechnete und wegen der eigenartigen Geruchsbildung auf allen organischen Nährböden als *Cladothrix odorifera* beschrieb. Daß dieser Organismus jetzt als *Actinomyces odorifer* zu bezeichnen ist, ergibt sich aus den im § 55 enthaltenen Ausführungen von selbst.

Rullmann (1 u. 2) züchtete diesen Mikroben zuerst aus einem Fehlboden und fand ihn später häufig in den verschiedensten Erdproben, von wo aus er auch in die Atmosphäre gelangt. Auf Gelatineplatten aus Erdproben kann es vorkommen, daß geruchlose Kolonien neben gerucherzeugenden liegen; diese ersteren lassen sich durch öftere Uebertragung in Semmel- und Erbsenbrei zur Erdgeruchsentwicklung bringen, wie es sich überhaupt zeigte, daß ganz besonders kohlenhydrathaltige Substanzen, wie die eben genannten und Kleister, Zuckerbouillon, ferner aber auch Milch, Harn und andere Körper von diesem Pilz unter Erdgeruchsbildung zersetzt werden. Zur Gewinnung dieses interessanten Riechstoffes legte Rullmann in großen und breiten Flaschen (zur besseren Entwicklung einer breit ausgedehnten Pilzdecke) Zuchten auf 1-proz. Milchzuckerbouillon an. Nach dreiwöchiger kräftiger Geruchsbildung wurden sie im Vakuum bei 25—30° C destilliert; die zuerst übergegangenen, am stärksten riechenden Partien wurden gesondert aufgefangen. Bei neutraler Reaktion war der Geruch sehr stark. Mit Aether ausgeschüttelt blieb die Flüssigkeit, vor Staub geschützt, der freiwilligen Verdunstung überlassen. Hierbei erfüllten sich die Laboratoriumsräume mit sehr starkem Erdgeruch; es hinterblieben aber nicht, wie allenfalls zu erwarten gewesen wäre, eine ölig dickliche Flüssigkeit sondern nur einige winzige, nadelförmige Kriställchen, die ihrer äußerst geringen Menge wegen nur spektroskopisch untersucht werden konnten und sich als doppeltbrechend erwiesen. Ein wiederholter Versuch, bei welchem das wässrige Destillat aus 3 l Milchzuckerbouillon mit Alkohol aufgenommen und dann im Vakuum bei 34° C überdestilliert worden war, lieferte auch kein besseres Ergebnis. Die Flüssigkeit reagierte leicht sauer; 50 ccm des Destillates mit 0.1 ccm Normal-Natronlauge und Phenolphtaleïn versetzt, zeigten schon beim ersten Tropfen Rötung. Nochmalige Destillation mit schärfster Eiskühlung ergab ein Produkt, welches bei gleicher Reaktion mit Silbernitrat keine Aldehydreaktion erkennen ließ, nach dem Eindunsten aber gleichfalls Kriställchen von Doppelbrechung hinterließ. Dieses ätherische Destillat war so konzentriert, daß beim Verdunsten auf Papier durch einen Tropfen große Räume mit Erdgeruch erfüllt wurden.

Außerdem erwiesen sich Zuchten von *Actinomyces odorifer* sehr widerstandsfähig gegen die Einwirkung von Chemikalien. Gesättigte

Chlornatriumlösung, 5-proz. Karbolsäure, 0,1-proz. Schwefelsäure, 0,1-proz. Schwefelsäure, 0,1-proz. Silbernitrat, 5-proz. Ammoniumpersulfat oder 0,1-proz. Sublimat vermochten die Entwicklungsfähigkeit nicht aufzuheben. Daß *Actinomyces odorifer* nicht nitrifizierend wirkt, hat RULLMANN (3) selbst berichtigend mitgeteilt.

Diese Angaben lassen erkennen, wie sich die Zersetzung organischer Körper im Ackerboden und der Erde überhaupt durch bakteriellen Einfluß vollzieht: alle Pflanzenreste geben zur Erdgeruchsbildung reichlich Substanz durch die in ihnen enthaltenen Kohlenhydratmengen ab. Eine sehr schätzenswerte Bereicherung unserer Kenntnisse hierüber verdanken wir SALZMANN (1). Bei Prüfung der Lebensbedingungen des *Actinomyces odorifer* legte er einen besonderen Wert auf verschiedene Kohlenstoffverbindungen als Nährmittel. Je 10 g der Kalksalze der Ameisen-, Essig-, Propion-, Butter-, Baldrian-, Milch-, Oxal-, Bernstein-, Aepfel-, Wein- und Citronensäure wurden neben 2 g phosphorsaurem Kalium, je 0,25 g schwefelsaurem Magnesium und Chlornatrium in einem Liter Leitungswasser gelöst; je 10 ccm dieser Flüssigkeit wurden in Reagensröhrchen gefüllt, sterilisiert und mit *Actinomyces odorifer* besät. Die Versuche ergaben, daß die zuerst genannten sechs Säuren, welche neben einer Carboxylgruppe entweder H oder CH_3 bzw. CH_2 oder von sauerstoffhaltigen Gruppen $CH \cdot HO$ enthielten, von dem Organismus als Kohlenstoffquelle n i c h t benutzt wurden. Sobald aber in den Säuren eine z w e i t e Carboxylgruppe vorhanden war, trat starkes Wachstum ein, namentlich wenn diese Verbindungen außerdem noch die Gruppe $CH \cdot HO$ enthielten. Auffallen mußte, daß der eigentliche E r d g e r u c h sich auch erst dann bemerkbar machte, wenn eben diese letztere Bedingung erfüllt war; danach setzen Wachstum und Erdgeruchsbildung gleiche Verhältnisse voraus. Außerdem untersuchte SALZMANN in dieser Hinsicht die Einwirkung von Kohlenhydraten, um die Verwendung des in ihnen enthaltenen Kohlenstoffes zu prüfen. Durch die grundlegenden Versuche RULLMANN's war bereits nachgewiesen, daß mehrere Kohlenhydrate Wachstum und Erdgeruchsbildung außerordentlich begünstigen, und danach erhielt SALZMANN mit Amylum, Inulin, Milchzucker, Saccharose, Arabinose, Glucose gleichfalls positive Ergebnisse. Besonders günstige Resultate erhält man durch Einsaaten in Glycerin, sowohl in neutraler oder alkalischer als auch in saurer Lösung. Bei reichlichem Wachstum innerhalb fünf Tagen wurden dann an den kleineren Aesten des Bakteriums oftmals keulenförmige Verdickungen beobachtet, deren Auftreten im morphologischen Teil angeführt ist. Starker Erdgeruch war bei diesen Versuchen noch nach vier Monaten wahrnehmbar. Gleiches Verhalten zeigten Einsaaten in verdünnte Humusstoffe, Harn und Bouillon, welche beiden letzteren auch von RULLMANN schon früher erfolgreich benutzt worden waren.

SALZMANN's Studien über das Verhalten der freien und gebundenen K o h l e n s ä u r e auf das Wachstum dieses Organismus kamen in allen Versuchsreihen zu der Feststellung, daß keine Vermehrung des Mikroben eintrat und K o h l e n s ä u r e hierbei nicht verwertet wurde. Nach Feststellung der Ernährungsbedingungen wurde auch die chemische Beschaffenheit des Zelleibs untersucht und große Mengen zu diesem Zwecke gezüchtet. Die Analyse ergab, daß in hundert Teilen Trockensubstanz enthalten waren: Aether-Extrakt 2,22 Proz., Stickstoff 7,39 Proz., Asche 9,23 Proz. Durch Multiplikation der gefundenen Stickstoffmenge mit 6,25 wurde ein Gehalt von 46 Proz. Protein berechnet.

Auch GILBERT (1) hat gelegentlich seiner Studien erst künzlich eine Anzahl von Actinomyceten auf Geruchbildung untersucht und gefunden, daß *Actinomyces thermophilus* anfangs Fruchtäthergeruch erzeugte, welcher aber nach eingetretener Sporenbildung sich in Modergeruch umwandelte. Während er bei vielen, so auch bei *Actin. hominis* BERESTNEFF, diesen modrigen Schimmelgeruch der Zuchten vorfand, stellte er in einer gegebenen Uebersicht fest, daß nur *Actin. odorifer* „sofort ausgesprochen erdigen" Geruch bildet.

Nach RULLMANN ist zur raschen Erzeugung des Erdgeruches durch Zuchten auf festen Nährböden die Zimmertemperatur als Optimum anzusehen.

Daß Actinomyceten gelegentlich auch eine geologische Rolle spielen können, wird durch eine Beobachtung NADSON's (1) bewiesen, welcher auf den Hyphen von *Actinomyces verrucosus* Eisenoxydablagerungen fand, was auch ADLER (1) bei *Actinomyces* PETERSON bestätigte.

Literatur

zum Kapitel Die Eisenbakterien, Cladotricheen, Streptotricheen und Actinomyceten.

***Acosta,** A., und **Grande Rossi,** (1) Cronica médico-quirúrgica de la Habana, 1893, S. 3. ***Adler,** O., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 11, S. 215. — (2) Deutsche medic. Wochenschrift, 1901, Nr. 26 u. 52. ***Afanaßjeff,** (1) St. Petersburger Med. Wochenschrift, 1888, S. 4 u. 10. ***Babes,** (1) Z. f. Hyg., 1888, Bd. 4, S. 173. ***Bang,** (1) Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin, 1884, Bd. 10, S. 249. ***Berestneff,** N., (1) L'Actinomycose et ses agents inféctieux, Moskau 1897. ***Berthelot** und **André,** Comptes rend. de l'Ac., 1891, Bd. 112, S. 598. ***Beythien, Hempel** und **Kraft,** (1) Z. f. Nahrungsmittel-Unters. etc., 1904, S. 215. ***Binz,** C., (1) Deutsche med. Wochenschrift, 1901, S. 212. ***Bostroem,** (1) Zieglers Beiträge, 1891, Bd. 9, S. 1. ***Brefeld,** (1) Botan. Untersuchungen über Schimmelpilze, 1881. ***Büsgen,** (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1894, Bd. 12, S. 147. ***Cohn,** (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., Heft 3, S. 186 u. 202. ***Corda,** Prachtflora europäisch. Schimmelpilze. Leipzig-Dresden 1839. ***Cranwell,** (1) Revue de la soc. méd. Argentina, Vol. XII, Nr. 65. ***Domec,** Th. (1) Arch. de méd. experim. et d'anatom. path. 1892. ***Ehrenberg,** Christian Gottfried, (1) Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen. Leipzig 1838. ***Eidam,** (1) Jahresber. d. Schlesischen Gesellsch. für vaterl. Kultur, 1876. ***Eppinger,** (1) Zieglers Beiträge, 1890, Bd. 9, S. 287. ***Fischer,** A., (1) Vorlesungen über Bakterien, 2. Aufl., Jena 1903. — (2) Jahrb. wiss. Bot., 1895, Bd. 27, S. 163. ***Flügge,** (1) Mikroorganismen, 3. Aufl., Leipzig 1896. ***Gasperini,** G., (1) Ann. de microgr., 1890, Bd. 2, S. 449; Annali d'Igiene, 1892, Bd. 2, S. 166. ***Gilbert,** (1) Z. f. Hyg., 1904, Bd. 47, S. 383. ***Harz,** (1) Vortrag in der Gesellschaft für Morphologie und Physiologie, München 1900. ***Hoeflich,** (1) Oesterreich. Monatsschrift f. Tierheilkunde, 1901. ***Hueppe,** (1) Naturwiss. Einführung in die Bakteriologie, Wiesbaden 1896. ***Israel,** J., (1) Virchows Archiv, 1878, Bd. 74, S. 15; 1879, Bd. 78, S. 421. ***Jackson,** (1) Hyg. Rundsch., 1904, S. 19. ***Johan-Olsen,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 1897, 2. Abt., Bd. 3, S. 273. ***Kruse,** (1) In: Flügge, Mikroorganismen, 3. Aufl., 1897. ***Lachner-Sandoval,** (1) Dissert., Straßburg 1898. ***Lehmann** und **Neumann,** Bakteriol. Diagnostik, München 1904, III. ***Lubarsch,** (1) Z. f. Hyg., 1899, Bd. 31, S. 187. ***Migula,** (1) System der Bakterien, Jena 1897. — (2) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1897, S. 321. ***Molisch,** H., (1) Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892. ***Nadson,** G. (1) St. Petersburger Akademie, 1903. ***Oesten,** (1) Gewinnung, Reinigung, Aufspeicherung und Förderung des Wassers, in: Oesten und Frühling, Handbuch der Ingenieurwissenschaften, 4. Aufl. 1904, Bd. 3. ***Rößler,** O., (1) Archiv d. Pharmacie, 1895, Bd. 233, S. 189. ***Rossi-Doria,** (1) Annali d'Igiene, 1892, Bd. 1, S. 399. ***Raumer, von,** (1) Zeitschr. f. analyt. Chemie, 1903, S. 591. ***Rullmann,** W., (1) Dissert., München 1895. — (2) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 116 u. 701. — (3) Ebenda, 1899, Bd. 5, S. 212 u. 713. ***Salzmann,** (1) Dissert., Königsberg i. Pr. 1902. ***Sanfelice,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1904, Bd. 36, Orig., S. 355. ***Sauvageau** und **Radais,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1892, Bd. 114, S. 559. ***Schorler,** (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 12, S. 681. ***Weichselbaum,** (1) Parasitologie, Jena 1898. ***Winogradsky,** (1) Bot. Ztg., 1888, Bd. 46, S. 261. ***Wolff,** M., (1) Virchows Archiv, 1891, Bd. 126, S. 11. ***Zopf,** (1) Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über Crenothrix polyspora, die Ursache der Berliner Wasserkalamität, Berlin 1879.

(*Manuskript-Einlauf: 30. Aug. 1904.*)

8. Kapitel.

Der Kreislauf des Schwefels.

Von Dr. W. Omelianski
in St. Petersburg.

§ 58. Bildung von Schwefelwasserstoff bei der Zersetzung der Proteinkörper.

Den Geruch des Schwefelwasserstoffes vergleicht man gewöhnlich mit dem Gestank von faulen Eiern, d. h. von solchen, in denen unter Einwirkung der in ihr Inneres eingedrungenen Mikroorganismen sich Fäulnisvorgänge eingestellt haben. Die Entbindung dieses Gases bei allen Fäulnisvorgängen kommt so häufig vor, daß man sie geradezu als wichtiges Symptom der Fäulnis aufzufassen pflegt. Eine ähnliche Zersetzung der Proteinkörper unter Bildung von Schwefelwasserstoff (und dessen Derivaten) kann man auch auf rein chemischem Wege, durch Einwirkung von Alkalien und Säuren, hervorrufen. Sogar beim Kochen in reinem Wasser scheidet sich aus dem Eieralbumin 0,1 Proz. Schwefelwasserstoff ab. Alle diese Tatsachen weisen darauf hin, daß die Schwefelwasserstoffgruppe im Eiweißmolekül mit den anderen Elementen nicht fest verbunden ist und unter Einwirkung verschiedener Agentien sich leicht abspaltet.

Die Anzahl der Mikrobenarten, welche eine Zersetzung der Eiweißkörper unter Ausscheidung von Schwefelwasserstoff hervorzurufen vermögen, ist eine sehr beträchtliche. Die Untersuchungen von Petri und Maassen (1, 2), Rubner (1), Stagnitta-Balistreri (1), Kempner (1), Karplus (1) u. a. haben erwiesen, daß die Fähigkeit, bei Eiweißzersetzung Schwefelwasserstoff in größerer oder geringerer Menge abzuspalten, nicht nur den gewöhnlichen Fäulnisbakterien, denen allein sie früher zugeschrieben worden ist, sondern überhaupt den meisten bekannten Mikroben zukommt, welche auf Eiweißnährböden gedeihen können, und daß sie insbesondere dann sich bemerkbar macht, wenn die Luftzufuhr zu der Zucht beschränkt ist oder wenn die Zusammensetzung des Nährbodens dafür günstig ist; so ist z. B. ein Zusatz von Pepton sehr förderlich. Sogar der physikalische Zustand des sich zersetzenden Eiweißes (rohes oder gesottenes Eieralbumin) läßt diese Fähigkeit nicht unbeeinflußt. Einige Mikroben besitzen sie jedoch fast gar nicht oder jedenfalls nur so schwach ausgebildet, daß sie nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden kann. Hierher gehören z. B. der *Bac. subtilis*, der *Bac. violaceus*, der *Bac. ramosus* und einige andere, denen diese Fähigkeit, wenn überhaupt, so jedenfalls in verschwindendem Maße zukommt.

Der Nachweis der durch Mikrobentätigkeit zustande kommenden Schwefelwasserstoffausscheidung kann auf sehr einfache Art geführt werden: man hängt im oberen Teile des Kolbens, in welchem die Fäulnis stattfindet, ein Stück Bleipapier auf, das unter der Einwirkung von Schwefelwasserstoff sich schwärzt, oder man fügt dem Nährboden Eisen-

salze zu, die mit Schwefelwasserstoff schwarzes Schwefeleisen bilden. In betreff des Nachweises auf Plattenzuchten vergleiche man die Bemerkung auf S. 108 dieses Bandes.

Die Ausscheidung von Schwefelwasserstoff aus dem komplizierten Molekül der Proteinkörper kann entweder als Ergebnis einer Spaltung, wobei die Schwefelwasserstoffgruppe gleichsam als im Eiweißmolekül präformiert gelten muß, oder aber einer reduzierenden Wirkung, sei es der Mikroben selbst oder der Produkte ihrer Lebenstätigkeit, aufgefaßt werden. Die letztere Ansicht vertreten Petri und Maassen (1), welche die reduzierende Tätigkeit der Mikroben auf die Ausscheidung von Wasserstoff in statu nascendi zurückführen, welcher den schwach gebundenen Schwefel organischer Verbindungen abspaltet. Es gelang ihnen, auf chemischem Wege durch Einwirkung des mit Wasserstoff beladenen Palladiummohres auf Pepton- oder Eiweißlösung bei 50° Ausscheidung von Schwefelwasserstoff hervorzurufen. Dieser Ansicht gemäß kann die Abspaltung dieses Gases bei der Eiweißfäulnis also mit sonstigen Reduktionsvorgängen, wie z. B. dem von Lackmus, von blauem Indigo, von Eisenoxydsalzen usw., identifiziert werden. Rubner (1) bestreitet jedoch diese Ansicht, indem er darauf hinweist, daß Schwefelwasserstoffentwicklung nicht nur unter Einwirkung von anaeroben Bakterien (welche allein die Fähigkeit haben, Wasserstoff auszuscheiden), zustande kommen, sondern auch durch streng aerobe Mikroben und sogar bei verstärkter Lüftung der Zucht stattfinden kann, obgleich in diesem letzteren Falle die Menge des ausgeschiedenen Schwefelwasserstoffes infolge teilweiser Oxydation eine geringere ist. Darum meint dieser Forscher, daß der Schwefelwasserstoff ein Ergebnis nicht der durch Wasserstoff bedingten Reduktion sondern der Abspaltung der Schwefelwasserstoffgruppe aus dem Eiweißmolekül unter der unmittelbaren Einwirkung des Bakterienprotoplasmas ist, gerade so wie wir Spaltungen und Umsetzungen anderer Art auf direkte Zellwirkung zurückzuführen pflegen.

Der Umstand, daß die einzelnen Ansichten über den Mechanismus der in Rede stehenden Zersetzung einander zuwider laufen, ist zweifellos zum größten Teile dadurch zu erklären, daß wir bis jetzt nicht über genaue Angaben in betreff des Baues des Eiweißmoleküls überhaupt und der Stellung der Schwefelwasserstoffgruppe darin im besonderen verfügen. Selinsky und Brussilowsky (1) haben den Versuch gemacht, dieses Hindernis zu umgehen. Als schwefelhaltigen Nährstoff wählten sie für ihre Versuche nicht Eiweiß, sondern eine organische Substanz von ganz bestimmter Zusammensetzung, nämlich das Ammoniaksalz der Thiodiglycolsäure $(CO_2 \cdot NH_4) \cdot CH_2 \cdot S \cdot CH_2(CO_2 \cdot NH_4)$, in welcher der Schwefel mit zwei Kohlenstoff-Atomen verbunden ist, die nicht unmittelbar aneinander hängen. Indem diese beiden Forscher den durch Brussilowsky aus Limanschlamm abgeschiedenen *Vibrio hydrosulfureus* auf eine 2-proz. Lösung dieses Salzes in Anwesenheit von Calciumchlorid und Kaliumphosphat einwirken ließen, konnten sie Ausscheidung von Schwefelwasserstoff erzielen. Wir sehen also, daß der Schwefel, welcher in organischen Substanzen mit Kohlenstoff verbunden ist, durch die reduzierende Einwirkung von Mikroben (gleichviel wovon sie abhängt) sich von dem Kohlenstoff loslösen und beim Zerfall des Moleküls als Wasserstoffverbindung (H_2S) austreten kann. Uebertragen wir diese Schlußfolgerung auf Eiweißkörper, so müssen wir zugeben, daß Schwefelwasserstoff bei deren Zersetzung als Ergebnis nicht nur der Abspaltung der im Molekül schon vorhandenen H_2S-Gruppe sondern auch der redu-

zierenden Wirkung von Mikroben auf das Eiweiß, gleich der eben beschriebenen, entstehen kann: letztere Wirkung kann entweder von den besonderen Eigenschaften des Mikrobenprotoplasmas selbst oder von irgend welchen Produkten ihrer Lebenstätigkeit (Wasserstoff, Methan u. a. m.) 5 abhängen.

§ 59. Die Entstehung von Schwefelwasserstoff aus sauerstoffhaltigen anorganischen Schwefelverbindungen.

Die Entstehung von Schwefelwasserstoff aus Sulfaten, Sulfiten und Thiosulfaten als Ergebnis der reduzierenden Einwirkung von Mikroben 10 kann in sehr einfacher Weise nachgewiesen werden.

Zu den Versuchen an **Sulfaten** empfiehlt BEIJERINCK (1), Grabenwasser mit Zusatz von Sulfaten und einer geringen Menge von organischen Substanzen zu verwenden. Unter Luftabschluß werden die Sulfate bei 25—30° C bereits nach 12—24 Stunden reduziert, wobei sich be-15 trächtliche Mengen von Schwefelwasserstoff entwickeln. SELINSKY und BRUSSILOWSKY (1) beobachteten das Gleiche bei Einwirkung von Reinzuchten des *Vibrio hydrosulfureus* und des *Bact. hydrosulfureum ponticum*, welches von ihnen beiden aus dem Schlamm des Schwarzen Meeres abgeschieden worden war. Vor kurzem hat NADSON (1) eine ähnliche Re-20 duktion von Sulfaten, deren Lösung in Gegenwart von Peptonen und unter anaeroben Lebensbedingungen mit Reinzuchten des *Proteus vulgaris* und des *Bac. mycoides* beimpft worden war, beschrieben.

Darauf, daß **Thiosulfate** unter Bildung von Schwefelwasserstoff durch Bakterien reduziert werden können, hat zuerst HOLSCHEWNIKOFF (1) 25 im Jahre 1889 hingewiesen. Er hat die Zerlegung von Natriumthiosulfat nach Beimpfung der Lösung mit dem *Bacterium sulfureum* beschrieben, welches er aus dem Schlamm der Wiesbadener Kläranlage abgeschieden hatte. Eine eben solche Reduktion rufen auch die oben erwähnten Mikroben, der *Vibrio hydrosulfureus* und das *Bact. hydrosulfureum* 30 *ponticum*, in nur anorganischen Schwefel enthaltenden Unterlagen hervor. Nach BEIJERINCK (1) werden Thiosulfate und **Sulfite** unter Bildung des in Rede stehenden Gases reduziert, wenn man sie zu einer Hefenzucht auf Würzegelatine oder in einen gewöhnlichen Gärungskolben zu gärendem Zucker hinzusetzt.

35 Aus sämtlichen angeführten Beobachtungen könnte man den Schluß ziehen, daß die im Mikrobenreiche so weit verbreitete Fähigkeit, sauerstoffhaltige Schwefelverbindungen bis zu Schwefelwasserstoff zu reduzieren, nicht das Ergebnis einer spezifischen Eigenschaft einzelner, bestimmter Mikrobenarten sondern vielmehr der reduzierenden Wirkung des Proto-40 plasmas oder irgend welcher Stoffwechselprodukte einer großen Reihe von Arten ist. In diesem Sinne äußert sich über diesen Prozeß auch HOPPE-SEYLER (1), welcher bereits im Jahre 1886 die Bildung von Schwefelwasserstoff aus Sulfaten durch die reduzierende Wirkung von M e t h a n in statu nascendi erklärt hat, welch letzteres Gas bei der 45 Cellulosegärung entsteht und dann nach folgender Gleichung umgesetzt wird:

$$CH_4 + MSO_4 = MCO_3 + H_2S + H_2O$$

PETRI und MAASSEN (1 u. 2) erklären die Entstehung von Schwefelwasserstoff aus sauerstoffhaltigen Schwefelverbindungen durch Einwirkung 50 von Wasserstoff in statu nascendi, welcher von vielen anaeroben Organismen

ausgeschieden wird. Indem sie den aus Zink und konzentrierter Salzsäure bereiteten Wasserstoff auf starke Ammonsulfatlösungen einwirken ließen, konnten sie Ausscheidung von Schwefelwasserstoff beobachten. Auf Lösungen anderer Sulfate, unter ihnen auch Gips, übt der Wasserstoff keine derartige Wirkung aus; unter natürlichen Verhältnissen ist jedoch eine solche Möglichkeit nicht ausgeschlossen, wobei die Sulfate mit dem bei der Fäulnis und bei der Harnstoffgärung entstehenden Ammoniumkarbonat in Wechselwirkung treten. Eine Reduktion von Thiosulfaten unter Bildung von Schwefelwasserstoff kann nach Petri und Maassen erzielt werden, wenn man mit dem mit Wasserstoff beladenen Palladiummohr auf jene einwirkt.

Beijerinck (1) bestreitet jedoch die Beweiskraft dieser Versuche, für welche allzu künstliche Bedingungen, welche von denen des natürlichen Vorganges zu weit abstehen, gewählt worden seien. Zudem sind diese Versuche auch in bezug auf ihre Methodik nicht tadellos. So z. B. nahmen Petri und Maassen, um die Reduktion von Sulfaten durch Wasserstoff zu beweisen, konzentrierte Lösungen von Salzsäure und Ammoniumsulfat. Die hierbei entstehende, stark konzentrierte Schwefelsäure konnte zum Teil zu schwefliger Säure und letztere weiter zu Schwefelwasserstoff reduziert werden. Abgesehen jedoch von diesen Mängeln der Methodik wird man durch eine Reihe indirekter Erwägungen davon abgehalten, sich der Wasserstofftheorie von Petri und Maassen ebenso wie auch der Methantheorie von Hoppe-Seyler ohne weiteres anzuschließen. Wollte man sie annehmen, so müßte man das Vorkommen von Wasserstoff oder Methan in den reduzierenden Zellen all derjenigen Bakterien, welche die sauerstoffhaltigen Verbindungen des Schwefels zu reduzieren vermögen, anerkennen. Wir verfügen jedoch nicht über Befunde, welche dieses z. B. in betreff der Hefenzellen bestätigen könnten, obgleich letztere die Sulfite und Thiosulfate ziemlich kräftig reduzieren. Andrerseits aber reduzieren viele Bakterienarten, welche energisch Wasserstoff ausscheiden und die Reduktion von Indigokarmin, Lackmus, Eisenoxydsalzen u. a. m. hervorrufen können, wie z. B. die Bakterien der Coligruppe und einige Buttersäurebakterien, nichtsdestoweniger Sulfate nicht bis zu Schwefelwasserstoff. Schließlich üben einige Bakterien, wie z. B. die Orangesarcine, trotz ihrer scharf ausgeprägten Fähigkeit, Schwefelwasserstoff auszuscheiden, auf andere leicht reduzierbare Substanzen, wie z. B. auf Nitrate, keine reduzierende Wirkung aus. Alle diese Tatsachen sprechen dafür, daß die reduzierende Wirkung von Bakterien auf schwefelhaltige Substanzen als ein spezifisches Merkmal einzelner Mikroben aufzufassen ist, welches von den besonderen Eigenschaften ihres Protoplasmas abhängt.

Man könnte mit Murray und Irvine (1) annehmen, daß die Reduktion der Sulfate unmittelbar durch den Kohlenstoff des Protoplasmas einiger Mikroben besorgt wird, und zwar etwa nach folgendem Schema:

$$MSO_4 + 2C = 2CO_2 + MS.$$

Das hierbei entstehende Sulfid wird durch Kohlensäure zersetzt und scheidet dann Schwefelwasserstoff aus:

$$MS + CO_2 + H_2O = H_2S + MCO_3.$$

Im Jahre 1895 hat Beijerinck aus Grabenwasser eine besondere anaerobe Mikrobenart, das *Spirillum desulfuricans* (*Microspira desulfuricans* nach der Terminologie von Migula), welches Sulfat energisch zu Schwefelwasserstoff reduziert, rein gezüchtet und hat diesen Mikro-

organismus als den eigentlichen Erreger der Sulfatreduktion hingestellt. Für die Zwecke der Züchtung dieses Spaltpilzes empfiehlt Beijerinck, Nährböden zu benutzen, welche auf 1 Liter Grabenwasser eine geringe Menge von mineralischen Salzen, 0.1 Proz. Natriumkarbonat, Sulfate 5 (Gips, Magnesiumsulfat oder Mohr'sches Salz) und Spuren von organischen Substanzen (Asparagin, Malzwürze oder Natriummalat) enthalten. Der Zusatz von diesen letzteren ist durchaus notwenig, denn die viel Energie erfordernde Reduktion der Schwefelsäure ist nur dann möglich, wenn zugleich organische Stoffe zugegen sind, welche durch die reduzierenden 10 Bakterien ozydiert werden können, um diese Energie zu gewinnen. Die Anhäufung von Schwefelwasserstoff in der Flüssigkeit übt auf die Mikroben keine schädliche Wirkung aus, solange sein Gehalt 70 mg auf 1 Liter nicht übersteigt, in größerer Menge aber ist er schädlich. Eine Reinzucht des *Sp. desulfuricans* wurde auf 15 Gelatine- und Agargallerte mit den gleichen Zusätzen, wie sie eben zuvor für die Nährlösung angegeben worden sind, gewonnen. Während die Gallerte abkühlte, wurde ihr ein Tropfen einer klaren, neutralen Lösung von Mohr'schem Salz (als Schwefelquelle und Indikator), eine so geringe Spur von Natriumkarbonat, daß noch keine Trübung auftrat, 20 und ein Tropfen der flüssigen Zucht zur Impfung zugefügt. Die Kolonien des gesuchten Spaltpilzes können leicht an ihrer Schwärzung oder der Schwärzung des sie umgebenden Agars infolge von Schwefeleisenbildung erkannt werden. Sie sind aus kurzen, nur sehr wenig gewundenen Spirillen zusammengesetzt, welche gewöhnlich ca. 4 μ lang 25 und ca. 1 μ dick sind. Die meisten Individuen zeigen mäßig schnelle Eigenbewegung, jedoch nur so lange, als der Zutritt von Sauerstoff zu den Präparaten verhindert wird. Nach van Delden's (1) Erfahrungen ist diese Form nur den Süßwässern eigen, indem die im Meerwasser aktive Form, *Microspira aestuarii*, obgleich sie dem *Sp. desulfuricans* 30 täuschend ähnlich ist, doch von ihm spezifisch verschieden ist. Mit Reinzuchten des *Sp. desulfuricans* gelingen die Versuche der Sulfatreduktion weniger leicht als mit Rohkulturen. Ein Zusatz von ein wenig Natriumsulfit (bis 0,5 Proz.), welcher Körper ebenso wie Thiosulfate durch diese Spirillen leicht unter Schwefelwasserstoffbildung reduziert wird, 35 bringt eine begünstigende Wirkung auf den Prozeß hervor. Die Schwefelwasserstoffbildung steigt in den Reinzuchten dieser Bakterien, nach van Delden's Versuchen, sehr hoch an, so z. B. wurden in einem Falle 238 mg dieses Gases, bei *Microspira aestuarii* sogar 952 mg pro Liter Zuchtflüssigkeit aufgefunden, ein so hoher Schwefelwasserstoffgehalt, wie 40 er wahrscheinlich unter natürlichen Verhältnissen niemals vorkommen wird. Es stellte sich bei den Versuchen mit Reinzuchten von *Sp. desulfuricans* heraus, daß dieses leicht eine höhere Konzentration der organischen Stoffe erträgt, als man aus den Befunden an Rohzuchten hatte vermuten können; so wurde z. B. in 2-proz. Lactat eine sehr starke 45 Schwefelwasserstoffbildung verursacht, und selbst in Fleischwasser, worin die Spirillen in Rohkulturen sofort durch Fäulnisbakterien verdrängt werden, fand durch Reinzuchten kräftige Sulfatreduktion statt. Zur Reinzüchtung von *Microspira aestuarii* wurden dieselben Nährböden wie bei *Sp. desulfuricans*, nur mit dem Zusatze von 3 Proz. Kochsalz, ange- 50 wandt, indem das Aussehen der Kolonien und alle Kulturmerkmale buchstäblich dasselbe wiederholen, was bei der Zucht von *Sp. desulfuricans* schon beschrieben wurde. Die Reduktion des Sulfates beginnt gewöhnlich schon einen Tag nach der Impfung; in jungen Zuchten sind die

Spirillen gut beweglich und kaum von der entsprechenden Süßwasserform zu unterscheiden. Die Uebereinstimmung, die *Sp. desulfuricans* und *M. aestuarii* in ihren Eigenschaften zeigen, gab van Delden Veranlassung zu der Frage, ob hier wirklich zwei verschiedene Arten vorliegen oder bloß zwei Varietäten derselben Art, welche durch Aenderung des Kochsalzgehaltes der Zuchtflüssigkeit ineinander übergehen können (eine plötzliche Aenderung des Kochsalzgehaltes von 0 auf 3 Proz. bei *Sp. desulfuricans* und von 3 Proz. auf 0 bei *M. aestuarii* hat den Untergang dieser Organismen zur Folge). Die angestellten Versuche mit allmählich zunehmenden Kochsalzkonzentrationen haben gezeigt, daß deren Wirkung auf diese beiden Spirillen so verschieden ist, daß wir sie vorläufig als zwei verschiedene Arten betrachten müssen. Dieselben *Microspira*-Formen hat wahrscheinlich auch Gosling (1) in seinen Versuchen über die Reduktion der Sulfate im Passugger Ulricuswasser (eine stark alkalische Eisenquelle) in Tätigkeit gehabt, obwohl es ihm nicht gelungen ist, sie reinzuzüchten.

§ 60. Bildung von Schwefelwasserstoff als Ergebnis der Vereinigung von freiem Schwefel mit Wasserstoff (Hydrogenisation des Schwefels).

Im Jahre 1879 hat Miquel (1 u. 2) aus Abwässern einen anaeroben, ca. 1 μ dicken, beweglichen Bazillus abgeschieden, welcher Eieralbumin unter Bildung von Schwefelwasserstoff zersetzt. Die Entbindung dieses Gases kann auch dann beobachtet werden, wenn der Bazillus auf Nährböden gezüchtet wird, denen, bei geringem Gehalt an schwefelfreien organischen Substanzen, freier Schwefel oder vulkanisierter, schwefelhaltiger Kautschuk zugesetzt worden war. Miquel hat den durch ihn entdeckten Spaltpilz als *Ferment sulfhydrique* bezeichnet und hat dessen Fähigkeit, Schwefel zu hydrogenisieren, als für diesen Mikroben spezifisch hingestellt. Duclaux bestreitet dies jedoch entschieden und betrachtet die Hydrogenisation des Schwefels als sekundären Prozeß, der zu dem Stoff- und Kraftwechsel dieses Organismus nicht in unmittelbarer Beziehung steht.

Allem Anscheine nach geht die Hydrogenisation des Schwefels überhaupt mit reduzierenden Fäulnisprozessen Hand in Hand. Winogradsky (3) hat unter dem Mikroskop das allmähliche Schwinden von Schwefel unter Bildung von Schwefelwasserstoff bei der fauligen Zersetzung abgestorbener Fäden von Schwefelbakterien (*Beggiatoa*), welche Schwefeltröpfchen enthalten, verfolgt. Indem er die Zucht im Laufe von mehreren Tagen systematisch beobachtete, konnte er feststellen, daß das Präparat um so stärker nach Schwefelwasserstoff roch und einen um so breiteren, trübgelben, aus Körnern und Kristallen von Schwefel bestehenden Saum aufwies, je mehr die toten *Beggiatoa*-Fäden von ihrem Schwefel einbüßten. Die Entstehung des Schwefelwasserstoffes ist durch Hydrogenisation des in den *Beggiatoa*-Zellen enthaltenen Schwefels zu erklären; letztere aber ist durch die sich abspielenden Fäulnisvorgänge bedingt. Der Schwefel wandert von der Mitte des Präparates nach dem Umfange zu aus, weil der in der Richtung nach diesem hin diffundierende Schwefelwasserstoff durch den Luftsauerstoff oxydiert wird.

Dieselbe Erscheinung der Hydrogenisation des Schwefels kann leicht auch makroskopisch, in der Zucht, nachgewiesen werden. Beijerinck (1)

füllt zu diesem Zwecke einen kleinen Kolben mit Fleischwasser, das durch Kochen luftfrei gemacht worden ist und einen Zusatz von 0,1 Proz. von Ferrolactat oder von MOHR'schem Salz als Indikator erhalten hat, und ein zweites ähnliches Kölbchen mit dem gleichen Gemisch, dem noch überdies Schwefelblumen zugefügt worden sind. Man beimpft mit einigen Tropfen Grabenwasser oder mit etwas Gartenerde und stellt beide Gefäße im Brütschrank bei 30° C auf. Sulfatreduktion findet in diesen Flüssigkeiten nicht statt. Dennoch tritt in beiden Proben schon nach 24 Stunden infolge von Schwefeleisenbildung eine Schwärzung auf. Es ist dabei noch bemerkenswert, daß im Kölbchen ohne Schwefel die Färbung bald eine gewisse Grenze erreicht, während sie in dem mit Schwefel versetzten Kölbchen viel länger fortschreitet und unter Ausscheidung einer großen Menge eines schwarzen Niederschlages die Flüssigkeit tiefschwarz werden läßt.

Alle diese Tatsachen weisen darauf hin, daß die Hydrogenisation des Schwefels ein sekundärer Prozeß ist, der sich im Gefolge vieler Reduktionsvorgänge abspielt und vielleicht von dem oder jenem Produkt der Lebenstätigkeit von Mikroben abhängt. So erklären PETRI und MAASSEN die Hydrogenisation des Schwefels durch Einwirkung von Wasserstoff in statu nascendi (vgl. S. 215).

Eine besondere Stellung in der Frage hat REY-PAILHADE (1) eingenommen, welcher die Hydrogenisation von Schwefel einer spezifischen enzymatischen Substanz, die er Philothion nannte, zuschreibt. Es ist ihm im Jahre 1888 gelungen, aus der Hefenzelle einen in verdünntem Alkohol löslichen Bestandteil auszuziehen, welcher die Fähigkeit besitzt, Schwefel zu hydrogenisieren. Zur Gewinnung dieser Substanz behandelte er trockene Hefe mit dem gleichen Gewicht Alkohols von 86 Proz. und schüttelte in einer geschlossenen Flasche durch zwei Tage. Das abfiltrierte Extrakt stellte eine vollkommen durchsichtige, gelbliche, etwas sauer reagierende Flüssigkeit dar, welche bei 35° ungefähr 0,001 Proz. ihres Gewichtes Schwefelwasserstoff aus Schwefel entbinden konnte. Nach der Erhitzung bei 70° durch zwei Stunden trübte sich die Flüssigkeit und verlor ihre obengenannte Fähigkeit. Eine ähnliche Substanz fand REY-PAILHADE (2) auch in vielen Geweben der Tiere, in denen sie in bezug zum Schwefel eine Rolle ähnlich jener spielt, welche dem Hämoglobin in Beziehung zum Sauerstoff zukommt. RÖSING (1) macht betreffs dieser Reduktionswirkungen von Organen und Säften auf Schwefel die Annahme, daß bei diesen Umsetzungen das Wasser eine Rolle spiele, indem eine Spaltung desselben zur Hydroxylierung der Eiweißstoffe unter Freiwerden von Wasserstoff führe. In wieweit diesen Beobachtungen eine allgemeine Bedeutung zuerkannt werden kann, ist noch als eine offene Frage zu betrachten.

§ 61. Die Schwefelwasserstoffbildung in den Meeren und Seen.

Aus den Darlegungen in den vorhergehenden Paragraphen ist zu ersehen, daß die Entwicklung von Schwefelwasserstoff unter dem Einflusse von Bakterien eine Naturerscheinung von sehr großer Verbreitung ist. Die Bedeutung dieses Vorganges erstreckt sich auf sehr verschiedene Gebiete von großem wissenschaftlichen und praktischen Interesse. So findet z. B. die Schwefelwasserstoffentwicklung im Boden und im Untergrunde der Städte, namentlich in den Sommermonaten, weite Verbreitung;

die Schwängerung des Wassers der Stadtgräben mit diesem Gase kann in einzelnen Fällen (z. B. in Amsterdam, siehe SALTET [1]) die Gesundheit der Bewohner bedrohen und muß die Aufmerksamkeit der Gesundheitsbehörden auf sich lenken. Den Balneologen dagegen liegt viel daran, den Gehalt von Heilquellen, Schlamm der Seen und Limane usw. an Schwefelwasserstoff, welcher eine Hauptkraft der Heilwirkung abgibt, nach Möglichkeit zu erhalten. Für den Geologen wie für den Biologen in gleichem Maße interessant ist die Entwicklung dieses Gases in Seehäfen und Meeresbuchten, in denen große Mengen von faulenden Abfällen sich ansammeln, sowie in einigen Meeren, in welchen der Grundschlamm eine Reihe von Reduktionsvorgängen durchmacht und Schwefeleisen sich in ihm ablagert, während der Sulfatgehalt des Wassers ein geringerer wird. In der Tat äußert die Bereicherung des Wassers mit Schwefelwasserstoff, welche stets von einer Verminderung des Sauerstoffgehaltes fast bis auf Null begleitet ist, eine bedeutende Wirkung nicht nur auf die darin lebenden höheren Organismen des betreffenden Meeres sondern auch auf die Bakterien darin. In schwefelwasserstoffhaltigem Wasser verschwindet die gewöhnliche Flora und Fauna der oberen oxygenisierten Schichten fast ganz; es finden sich nur die den herrschenden besonderen Lebensbedingungen angepaßten Lebewesen vor, so z. B. grüne Oscillarien, Chroococcaceen, Diatomeen, Anguilluliden, Infusorien, Rädertierchen usw. Besonders charakteristisch sind die Infusorien, welche sich nicht bloß in den oberflächlichen sondern auch in den tieferen Schichten dieses Wassers aufhalten, in denen der Sauerstoffgehalt ein äußerst geringer ist. Man trifft hier auch eine Reihe von Bakterien an, welche in stark nach Schwefelwasserstoff riechenden Flüssigkeiten ganz gut gedeihen und sich vermehren; hierher gehören nicht nur solche Bakterien, welche dieses Gas zu Schwefelsäure oxydieren (Schwefelbakterien), sondern auch diejenigen, für welche eine schwefelwasserstoffhaltige Umgebung infolge ihrer reduzierenden Fähigkeit gedeihlich ist (viele anaerobe Bakterien).

Ueber die **Größe des Gehaltes an Schwefelwasserstoff** in den **natürlichen Wasserbecken** kann man sich nach den Angaben NADSON's (1) einen Begriff machen. Dieser Forscher fand im Grundwasser des Weissowo-Salzsees (Gouv. Charkow, Rußland) in einem Liter die nachstehend verzeichneten Mengen dieses Gases vor:

In der Tiefe von 16 m 5,91 ccm H_2S
" " " " 18,1 " 88,31 " "
" " " " 18,7 " 184,96 " "

Man könnte im Meerwasser als Ergebnis der Reduktion von Sulfaten einen beträchtlichen Gehalt daran erwarten. In Wirklichkeit ist dies jedoch durchaus nicht immer der Fall. Diese Erscheinung kann nur unter gewissen günstigen Bedingungen, welche in der Natur sehr selten zusammentreffen, in größerer Entfaltung auftreten. Mit Bestimmtheit ist das Vorkommen von Schwefelwasserstoff fürs erste nur im Schwarzen Meere nachgewiesen worden. Die russische Tiefsee-Expedition vom Jahre 1891 konnte im Schwarzen Meere überall, von einer Tiefe von 200—400 m angefangen, eine Verunreinigung des Wassers mit Schwefelwasserstoff nachweisen; über diese Tiefe hinaus verbreitet sich die Fauna nicht weiter hinab, der Gehalt an diesem Gase aber wächst von hier aus in der Richtung zum Meeresboden immer mehr an. Nach LEBEDINZEFF's (1) Bericht wies ein Liter Wasser aus dem Schwarzen Meere auf:

In einer Tiefe von	213 m	0,33 ccm	H_2S
„ „ „ „	427 „	2,22 „	„
„ „ „ „	2026 „	5,55 „	„
„ „ „ „	2528 „	6,55 „	„

Demnach enthält also die dem Meeresgrunde aufliegende Schichte 20mal mehr Schwefelwasserstoff als das Wasser an der Oberfläche.

Dieser Reichtum des Tiefwassers an diesem Gase macht eine besondere Eigentümlichkeit des Schwarzen Meeres aus und verbreitet sich, zufolge LEBEDINZEFF (1), weder auf das benachbarte Marmarameer noch auch, zufolge der Ergebnisse der Oesterreichischen Expedition, auf den östlichen Teil des Mittelmeeres. Darum könnte das Schwarze Meer, das sich durch diese Eigenschaft von sämtlichen übrigen Meeren unterscheidet, mit vollem Rechte als „Schwefelwasserstoff-Meer“ bezeichnet werden.

Zweifellos ist die Entwicklung dieses Gases in der Tiefe des Schwarzen Meeres ein Ergebnis der Verwesung der am Meeresgrunde abgelagerten organischen Substanzen unter Einwirkung von anaeroben Bakterien in Anwesenheit von schwefelsauren Salzen des Meerwassers. In der Tat haben SELINSKY und BRUSSILOWSKY (1) die Bakterien, welche Sulfate und Thiosulfate in Abwesenheit von schwefelhaltigen organischen Substanzen zerlegen, im Schlamme des Schwarzen Meeres nachgewiesen. Der Grund, warum dieser Vorgang sich gerade nur im Schwarzen Meere und nicht auch in anderen Meeren in so hohem Grade geltend macht, ist nach ANDRUSSOW (1 u. 2) darin zu suchen, daß in jenem ersteren, dank dem nach der Tiefe zu rasch anwachsenden spezifischen Gewichte des Wassers, ein vertikaler Kreislauf der verschiedenen Wasserschichten ganz fehlt. In anderen Meeren, in denen solch rasches Anwachsen des spezifischen Gewichtes mit zunehmender Tiefe fehlt und beständige Strömungen herrschen, kann eine so beträchtliche Entwicklung von Schwefelwasserstoff in den tiefen, immer wieder frisch mit Sauerstoff versehenen Schichten nicht stattfinden. Als untere Grenze des vertikalen Kreislaufes ist im Schwarzen Meere eine Tiefe, welche nicht unter 170 m hinabreicht, anzusehen: weiter unten steht die ganze Wassermasse still. Sauerstoff kann in diese Tiefen nur durch Diffusion gelangen, welche aber, wie bekannt, nur sehr langsam vor sich geht und nicht weit vorzuschreiten vermag. Dieser Abgrenzung der Seewasserschichten des Schwarzen Meeres entsprechend, beschränkt sich das aerobe Leben dort nur auf die oberen, mit Sauerstoff versehenen Schichten, während sich in der Tiefe allerlei Fäulnisprodukte als Ergebnis anaerober Vorgänge ansammeln.

§ 62. Die Limane.

Die an den Küsten des Schwarzen Meeres (z. B. bei Odessa) so häufigen Limane sind seichte, salzige Seen, welche von dem offenen Meere nur durch eine schmale, niedrige Landenge getrennt sind, und deren Boden mit zähem Schlamme bedeckt ist, welcher seine schwarze Farbe dem Gehalte an Schwefeleisen verdankt. Der zu Heilzwecken verwendete Limanschlamm, welcher sich unter der ihn bedeckenden Sole ablagert, stellt eine plastische, teigige, formlose Masse von schwarzer Farbe dar, welche stark nach Schwefelwasserstoff riecht und eine deut-

lich alkalische Reaktion besitzt. Den Grundstock dieses Schlammes bilden Lehmpartikel, feiner Sand und Muscheln; er selbst aber besteht aus Salzablagerungen mit reichlichem Eisengehalte und aus organischen Abfällen pflanzlicher und tierischer Herkunft. Mit der Luft in Berührung gebracht, zieht er begierig Sauerstoff an und nimmt infolge von Oxydation des schwarzen Schwefeleisens graue Färbung an. Bedeckt man diesen oxydierten Schlamm wiederum mit Sole, so treten ziemlich bald in ihm schwarze Flecken auf, welche allmählich an Umfang zunehmen, sodann miteinander verfließen, so daß der Schlamm bald wiederum tief schwarz wird und alle charakteristischen Eigenschaften des zu Heilzwecken verwendeten Limanschlammes wiedererlangt. Diese Umwandlung von grauem, oxydiertem Schlamm in schwarzen wird durch die in ihm stattfindenden Reduktionsvorgänge bedingt, welche unter dem Einflusse von besonderen, dem Leben in konzentrierter Salzlösung angepaßten Mikroorganismen sich abspielen, die einerseits Schwefelwasserstoff und andererseits Ammoniak und Aminbasen ausscheiden. Unter diesen Bedingungen, d. h. bei Einwirkung von Schwefelwasserstoff in alkalischer Lösung, scheidet sich aus Eisensalzen eine sehr reichliche, gleichmäßige und plastische Masse des schwarzfarbigen colloidalen Schwefeleisenhydrates aus, welches selbst die engsten Zwischenräume des aus Sand und Lehm zusammengesetzten Gerüstes durchdringt, alle feinsten Teilchen umgibt und auf diese Weise den charakteristischen Limanschlamm bildet.

Einen Versuch, welcher die Teilnahme von Mikroorganismen an der Bildung von Limanschlamm beweist, hat zuerst Werigo (1 u. 2) angestellt. Er sterilisierte grauen oxydierten Schlamm, welcher mit einer Schicht von Sole bedeckt war, durch Erhitzen auf 120° C und stellte fest, daß dieser in solchem Zustande dann beliebig lange Zeit hindurch aufbewahrt werden kann, ohne seine graue Farbe oder seine übrigen Eigenschaften einzubüßen. Man braucht jedoch derartig behandelten Schlamm nur mit einer kleinen Menge unsterilisierten schwarzen Schlammes zu beimpfen, um schon nach kurzer Zeit beobachten zu können, daß er allmählich dunkler wird und sich in den charakteristischen schwarzen Schlamm umwandelt.

Nach Versuchen von Philippowitsch (1) und von Brussilowsky (1 u. 2) tritt die Schwärzung des sterilisierten grauen Schlammes selbst dann ein, wenn er mit Limanwasser oder sogar mit Flußwasser beimpft wird. Der letztgenannte Forscher hat den Versuch gemacht, die Bakterien, welche die im Limanschlamm vor sich gehenden Reduktionsvorgänge durchführen, aus ihm abzuscheiden. Als derartige reduzierende Agentien wirken seiner Meinung nach drei Arten von schwärmfähigen, etwas gebogenen Stäbchen, welche sowohl morphologisch als auch physiologisch sehr nahe miteinander verwandt sind. Nährbouillon nimmt unter ihrer Einwirkung alkalische Reaktion an, auf Fleischpeptongelatine entwickeln sie einen charakteristischen Geruch nach Limanschlamm. Diese Bakterien entwickeln bedeutende reduzierende Kraft, gehören zu den fakultativ anaeroben Mikroorganismen und vermögen auf sehr salzreichen Nährböden zu gedeihen. Alle diese charakteristischen Eigenschaften sind jedoch bei jeder einzelnen dieser drei Arten in verschieden großem Maße ausgebildet. Beimpft man mit einer Reinzucht dieser Bakterien, insbesondere der einen von ihnen, des *Vibrio hydrosulfureus*, welcher die höchste reduzierende Kraft besitzt, sterilisierten grauen (oxydierten) Limanschlamm, so sieht man diesen sehr bald von dem Impfstiche aus

sich schwärzen. Besonders lebhaft verläuft die Reduktion nach gleichzeitiger Beimpfung mit allen drei Arten. Bei einer Temperatur von 30° C beginnt sie schon nach einigen Stunden, viel rascher als nach Beimpfung mit einem Stückchen schwarzen Schlammes. Die graue
5 Masse gewinnt die gleiche schwarze Färbung, das gleiche Gefüge und den gleichen Geruch wieder wie frischer, eben dem Liman entnommener Schlamm. Trotz des positiven Ergebnisses dieser Versuche ist jedoch kein Grund vorhanden, die von Brussilowski gezüchteten Bakterienarten als spezifische Erreger der Reduktion von
10 Limanschlamm anzusehen. Nach Versuchen dieses Forschers selbst kann die Schlammreduktion, und zwar mit nicht geringerem Erfolge, auch durch einige andere Mikroben bewirkt werden, die in keinerlei Beziehung zum Limanschlamm stehen, so z. B. durch *Bac. phosphorescens*, *Bac. typhi* usw. Man darf wohl annehmen, daß sich nicht wenige der-
15 artige reduzierende Bakterien finden werden, insbesondere unter den fakultativ anaeroben, zu denen die große Mehrzahl der Fäulnisbakterien gehört.

Ein lehrreicher Versuch, plastischen Schlamm künstlich zu gewinnen, ist von Selinsky und Brussilowsky (1) gemacht
20 worden. Sie nahmen eine 2-proz. Lösung von Aluminiumchlorid (um die Menge der colloidalen Massen zu vergrößern), fügten etwas Eisenchlorid hinzu und versetzten das mit Ammoniak alkalisch gemachte Gemisch mit einer Bouillonzucht des Limanmikroben und mit einer 0.33-proz. Thiosulfatlösung. Nach 24 Stunden schied sich ein tiefschwarzer
25 Schwefeleisenhydrat-Niederschlag ab, der in der Masse des Aluminiumoxydhydrates eingeschlossen war. Er erinnerte stark an den plastischen colloidalen Limanschlamm, nur daß er weicher als dieser war, weil er keine Muscheln und keinen Sand enthielt.

§ 63. Die Schwefelbakterien. Ihre Verbreitung und die
30 allgemeinen Methoden ihrer Züchtung.

Der Umstand, daß biologische Vorgänge, welche von Schwefelwasserstoff-Ausscheidung aus organischen und anorganischen schwefelhaltigen Substanzen begleitet werden, in der Natur allgemein verbreitet sind, würde sehr bald zu bedeutender Anhäufung dieses für Pflanzen
35 und Tiere giftigen Gases im Boden, im Wasser und sogar in der Luft führen, wenn es kein ausgleichendes Gegenstück zu diesem Vorgange gäbe, welches in der parallel verlaufenden Oxydation von Schwefelwasserstoff zu Schwefelsäure, deren Salze einen notwendigen Bestandteil der mineralischen Pflanzennahrung ausmachen, besteht. Diese Oxydation
40 findet überall als rein chemischer Prozeß unter Einwirkung des Luftsauerstoffes statt. Der in Wasser gelöste Schwefelwasserstoff bildet zuerst ein feines Schwefelpulver, welches sodann, besonders lebhaft bei Anwesenheit von porösen Körpern, zu Schwefelsäure oxydiert wird. In der Natur geht jedoch dieser Oxydationsprozeß viel kräftiger und um-
45 fassender unter Einwirkung besonderer Bakterien vor sich, welche Winogradsky (1) als Schwefelbakterien bezeichnet hat und welche sich von den übrigen Spaltpilzen durch das Vorkommen von Schwefeltröpfchen im Bakterienprotoplasma unterscheiden. Im Gegensatz zu den schwefelwasserstoffbildenden und stark reduzierenden Bakterien,
50 äußern die Schwefelbakterien eine kräftig oxydierende Wirkung,

durch welche sie den Schwefelwasserstoff, d. h. das Produkt der Lebenstätigkeit der bisher betrachteten Mikrobengruppe, zu ihren biologischen Zwecken verwenden.

Der Gruppe der Schwefelbakterien gebührt ein hervorragender Platz in der Geschichte der Mikrobiologie, da sich bei ihrem Studium der Kampf der Meinungen in betreff der wesentlichsten Fragen, welche die Morphologie und Physiologie der Bakterien behandeln, abgespielt hat, und weil ihnen eine große Rolle in der Ausbildung unserer derzeitigen bakteriologischen Anschauungen zugefallen ist. Die Untersuchungen über die Morphologie dieser Organismen haben unsere Auffassungen über die Abgrenzung der Bakterienspecies, deren Entwicklungsgeschichte usw. wesentlich beeinflußt. Die Erörterungen über den Wert der Zellgestalt der Bakterien für die Arten-Bestimmung, dann die Lehre über den Pleomorphismus der Bakterien haben hier Belege und Begründung gefunden. Andererseits waren die Schwefelbakterien die ersten Vertreter einer besonderen Klasse von Bakterien, denen die bemerkenswerte Fähigkeit zukommt, gewisse anorganische Substanzen zu oxydieren. Hierher gehören nebst den Schwefelbakterien die Eisenbakterien, die nitrifizierenden Mikroben usw., welche durch Winogradsky studiert worden sind. Diesem Forscher gebührt das Verdienst, nachgewiesen zu haben, daß dieser rein anorganische Oxydationsprozeß für diese Wesen die einzige Energiequelle vorstellt, auf deren Kosten ihre Lebensprozesse sich abspielen, und dadurch haben diese Mikroben eine hervorragende Bedeutung in der Physiologie gewonnen.

„Die Mehrzahl der hierher gehörenden Organismen," schreibt Winogradsky (2), „sind überall in Sümpfen, Tümpeln usw. verbreitet, selbst da, wo man ihr Vorkommen nicht ahnt, weil sie nur in höchst unbedeutender Menge zugegen und durch direkte mikroskopische Untersuchung des Wassers oder Schlammes nicht zu entdecken sind. Eine namhafte Vermehrung erreichen sie nur in Gewässern, welche eine gewisse Menge Schwefelwasserstoff gelöst enthalten. Ihr Hauptfundort sind die Schwefelquellen." Sie bilden dort schneeweiße zierliche Netze, welche den Boden der Quellen vollständig auskleiden. Lange Zeit hindurch galten diese Gebilde für tote organische Niederschläge; in Frankreich werden sie als barégine oder glairine, nach dem Namen der Schwefelquelle zu Barège (in den französischen Pyrenäen), bezeichnet. Nicht selten sind die farblosen Schwefelbakterien mit in verschiedenen Nuancen von rot oder rotviolett gefärbten Arten (Purpurbakterien) untermengt, welche unweit des Ausflusses der Quelle an ihrem Grunde einen prächtigen Teppich bilden.

Schwefelbakterien können fast in jedem Sumpfe, insbesondere im Spätherbst oder im Frühjahr, nachgewiesen werden, wenn die Pflanzenreste der vorhergegangenen Vegetationsperiode im Wasser (unter Bildung von Schwefelwasserstoff) faulen. Die Bildung dieses Gases und die Vermehrung der Schwefelbakterien verläuft besonders lebhaft, wenn das Wasser an Sulfaten (Gips) reich ist. Auf diese Weise erklärt sich auch das massenhafte Auftreten von Schwefelbakterien im Meerwasser, in stillen Meeresbusen und Tümpeln, in denen verschiedenartige pflanzliche (und tierische) Ueberreste angehäuft werden, wie dies Warming (1) für die dänische Küste und Engler (1) für die Kieler Föhrde schildern. In Meeresbuchten längs der dänischen Küste, wo große Massen von faulendem Seegras sich ansammeln, erscheinen die betreffenden Bakterien nach Warming so reichlich, daß dadurch das Wasser auf weite

Strecken hin rot gefärbt wird: der Schwefelwasserstoffgeruch soll in der ganzen Umgebung dieser Standorte der Schwefelbakterien höchst lästig sein.

Für die Anlegung von Zuchten der Schwefelbakterien im großen empfiehlt WINOGRADSKY das folgende einfache Verfahren. Man bringt einige Stücke des zerschnittenen frischen Wurzelstockes der in jedem Teiche anzutreffenden und auch an Flußufern nicht seltenen Blumenbinse (*Butomus umbellatus*) samt dem daran hängenden Schlamme in ein tiefes Gefäß mit 3—5 Litern Wasser, setzt ein paar Gramme Gips zu 10 und läßt unbedeckt bei Zimmertemperatur stehen. Nach Ablauf von 5—7 Tagen schon kann man die Entwicklung von Schwefelwasserstoff bemerken, welcher durch die Tätigkeit verschiedener, in dem Schlamme enthaltener Spaltpilze aus dem Calciumsulfat gebildet wird. Damit ist nun für die gleichfalls vorhandenen Schwefelbakterien der Boden ge- 15 schaffen, auf dem sie bald sich entwickeln. Schon nach 3—6 Wochen kann man deren Anwesenheit mikroskopisch feststellen, und nach und nach vermehren sie sich so stark, daß sie auch dem unbewaffneten Auge erkennbar werden. In diesem bunten Gemische von Schwefelbakterien fehlen gewöhnlich auch die roten Arten nicht, häufiger aber treten die 20 farblosen langfädigen auf.

Sehr gute Erfolge hat WINOGRADSKY (1) auch mit einem besonderen Apparate, mit einer „künstlichen Schwefelquelle" erhalten, indem er die Bedingungen, welche die Schwefelbakterien in den Schwefelquellen finden, künstlich nachgeahmt hat. Diese sind: fließendes oder oft er- 25 neutes Wasser, welches sehr wenig organische Stoffe in Lösung, wohl aber freien Schwefelwasserstoff in nicht zu großen Mengen enthält.

Diese Massenzuchten benutzte WINOGRADSKY nun zur Gewinnung des zur Untersuchung nötigen Materials. Alle seine Befunde sind durch kontinuierliche Beobachtung unter dem Mikroskop gewonnen worden.

30

§ 64. Die Gattung Beggiatoa.

Von den farblosen langfädigen Schwefelbakterien sind durch WINOGRADSKY (2) zwei Gattungen näher studiert worden. Die eine trägt den von TREVISAN (1) im Jahre 1872 gegebenen Namen *Beggiatoa*, zu Ehren des italienischen Arztes F. S. BEGGIATO zu Vicenza, welcher im 35 Jahre 1838 über die Flora der Schwefelquellen der Euganeischen Hügel nächst Padua Mitteilung gemacht hatte. Die Arten dieser Gattung



Fig. 24. Beggiatoa alba.
Dasselbe Fadenstück unter verschiedenen Lebensbedingungen, und zwar: *a*, in einem an Schwefelwasserstoff reichen Nährboden; der Faden ist mit Schwefelkörnern dicht erfüllt. *b*, nach 24-stündigem Verweilen in einer von diesem Gase freien Flüssigkeit; es sind nur noch wenige Schwefelkörner vorhanden. *c*, nach weiteren 48 Stunden; jene sind ganz verschwunden, die Querwände sind nun sichtbar, der Inhalt der einzelnen Glieder hat sich geballt. — Vergr. 900. Nach WINOGRADSKY.

treten als lebhaft sich bewegende, zylindrische Zellfäden auf, die eine Länge von einem Zentimeter und darüber erreichen können. Deren Breite ist für eine bestimmte Art immer die gleiche und gibt das Merkmal zu deren Unterscheidung von den anderen Arten ab. Unter günstigen Ernährungsbedingungen, also insbesondere bei Anwesenheit von Schwefelwasserstoff, erweist sich das Innere des einzelnen Fadens (*Fig. 24, a*) reich mit rundlichen, stark lichtbrechenden Körnchen erfüllt: das sind die noch zu besprechenden Schwefelkörnchen. In diesem Zustande erkennt man nur schwer oder gar nicht die Querwände, durch welche diese Fäden gegliedert sind, wie aus der *Fig. 24, c* zu ersehen ist, die denselben Faden darstellt, nachdem er durch längeres Verweilen in schwefelwasserstofflosem Wasser die zuvor bezeichneten Einschlüsse verloren hatte. Auch die Länge dieser Glieder ist bei den verschiedenen Arten ungleich. Mangelt es diesen an dem genannten, ihnen auf die Dauer unentbehrlichen Gase, dann stellt sich Zerfall der Fäden in ihre Glieder ein (*Fig. 25*); deren Inhalt schwindet bis auf einen dünnen Wandbelag, und endlich sterben sie ab. Nach der Bildung von Sporen hat man bei *Beggiatoa* vergeblich geforscht. Von den Arten dieser Gattung ist am häufigsten die *Beggiatoa alba* anzutreffen. Deren Fäden weisen eine Dicke von 2,8 bis 2,9 μ auf, während die Länge der einzelnen Glieder zwischen 2,9 und 5,8 μ schwankt, so daß also die kürzesten gleichmäßig sind. Eine zweite Art, mit einer Fadendicke von 1,6—1,7 μ und einer Länge der einzelnen Fadenglieder von 4—8,5 μ, hat den Namen *Beggiatoa media* erhalten. Eine dritte, deren Querdurchmesser nur 0,8 μ beträgt, heißt *Beggiatoa minima*. Diese beiden letztgenannten Arten sind in der *Fig. 26* bei gleicher Vergrößerung wie die erstgenannte Art abgebildet. Außer diesen gibt es noch eine große Anzahl von Arten, deren Fäden andere Breitenabmessungen aufweisen, welche zwischen den oben genannten Zahlen liegen.



Fig. 25. *Beggiatoa alba*, infolge Mangel an Schwefelwasserstoff im Absterben: Zerfall des Fadens in seine kurzen, sich abrundenden Glieder. — Vergr. 900. Nach WINOGRADSKY.

Allen diesen gegenüber ein Riese ist die zuerst von COHN beschriebene und später von WARMING an der dänischen Küste und von ENGLER auf dem sog. toten Grunde der Kieler Bucht aufgefundene *Beggiatoa mirabilis*. HINZE (1) hat den Bau der Zellen dieses interessanten Schwefelbakteriums, welches unter allen

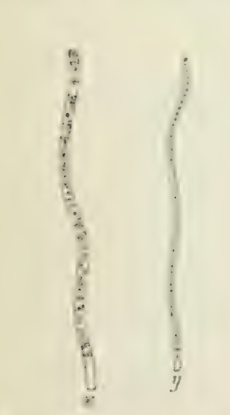


Fig. 26. Endstück je eines Fadens von *Beggiatoa media* (*x*) und *B. minima* (*y*). — Vergr. 900. Nach WINOGRADSKY.



Fig. 27. *Beggiatoa mirabilis* COHN. Optischer Längsschnitt durch die Spitze eines lebenden Fadens mit einer Endzelle und einer Binnenzelle. Im Protoplasma liegen viele Schwefeltropfen. — Vergr. 900. Nach HINZE.

zu den Schizomyceten gerechneten Organismen die größten Abmessungen besitzt, einer eingehenden Untersuchung unterzogen. Schon bei schwacher Vergrößerung kann man an den zylindrischen, lebhaft sich bewegenden Fäden die einzelnen Zellen unterscheiden. Die Dicke der Fäden beträgt bis zu 45 μ, die Länge der Gliederzellen kommt ungefähr dem halben Fadendurchmesser gleich. Die Zelle ist von einer deutlich doppelt konturierten Wand umgeben (*Fig. 27*). Der Zellinhalt besteht aus Protoplasma und mehr oder weniger zahlreichen, großen, von Zellsaft erfüllten Vacuolen. Jenes liegt, wie bei den Zellen höherer Pflanzen, als Wandbelag der Membran an. Von diesem nun ziehen sich durch das Lumen der Zelle Plasmaplatten hindurch, bald als dünne Häute, bald von ansehnlicherer Dicke. Große, stark lichtbrechende Schwefelkörner sind in unregelmäßiger Anzahl sowohl dem wandständigen Protoplasma als auch den inneren Platten eingebettet, oft in solcher Menge, daß dadurch das Bild der Zelle ein undeutliches wird. Die Größe der Schwefelkörner ist eine ganz verschiedene: von kleinen Kugeln angefangen, die bei 1500-facher Vergrößerung wie ein Punkt erscheinen, gibt es alle Uebergänge bis zu den großen Tropfen, deren Durchmesser mehrere μ erreicht.

Das Wachstum der Beggiatoen geht sehr langsam vor sich. Um seine Länge zu verdoppeln, bedarf ein Faden mindestens 24 Stunden. Ihre Empfindlichkeit ist groß; schon bloßes Fassen mit der Pincette vermag sie zu töten. Man saugt sie deshalb zum Zwecke der Untersuchung mit Hilfe eines Röhrchens auf und schützt sie vor dem Drucke des Deckglases durch Einlegen von Glassplittern u. dgl. in die Flüssigkeit.

Die Beggiatoen erscheinen fast regelmäßig spontan in den oben erwähnten Gefäßen mit Butomusrhizom und Gips. Riecht die Flüssigkeit stark nach Schwefelwasserstoff, so breiten sie sich als zarte Netze an den Gefäßwänden nahe an der Oberfläche aus. Enthält das Wasser jedoch so wenig von diesem Gase, daß ein Geruch nur nach Mischen oder Schütteln wahrnehmbar wird, so bedeckt das Beggiatoanetz den Schlamm und die Pflanzenstücke am Boden der Gefäße.

§ 65. Die Gattung Thiothrix.[1]

Die Arten dieser Gattung, welche von Winogradsky neu aufgestellt worden ist, unterscheiden sich von den Beggiatoen durch den Mangel an freier Beweglichkeit. Jene sind seßhaft, d. h. sie befestigen ihr eines Ende durch Vermittlung eines von ihnen erzeugten schleimigen Haftkissens an den Gefäßwänden der Laboratoriumszucht, am Deckglas des mikroskopischen Präparates, an den Steinen, Pflanzenresten und ähnlichen ruhigen Unterlagen in ihren natürlichen Fundorten; das andere Ende ragt und wächst frei in die Flüssigkeit hinein. Die *Fig. 28* gibt davon eine Abbildung. Auch bei dieser Gattung ist die Gliederung der Fäden für gewöhnlich durch den reichen Gehalt an Schwefel verdeckt. Wäscht man jedoch diesen mit absolutem Alkohol aus und färbt hierauf, z. B. mit Fuchsin, dann sind die Querwände ganz deutlich zu sehen. Die Länge der Glieder nimmt gegen das freie Ende hin allmählich zu, wie die folgenden Zahlen einer von Winogradsky ausgeführten Messung dartun: Gliederlänge in der Nähe der Haftstelle 4—8.5 μ, an der Spitze 8—15 μ. Aber auch an beträchtlich kürzeren Gliedern ist kein Mangel.

[1] Von θεῖον: Schwefel und θρίξ: Haar.

In Hinsicht auf die Breite der Fäden gilt das Umgekehrte; sie verjüngen sich gegen das freie Ende zu, wo sie z. B. einen Querdurchmesser von nur 1,5 μ aufweisen, gegen 2,0 μ an der Haftstelle. Es sind somit die Fadenglieder an der Spitze schlanker. 5

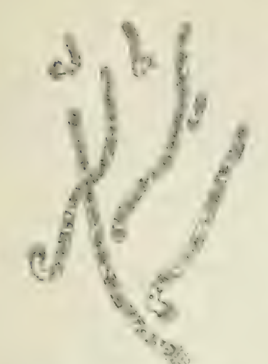


Fig. 28. Thiothrix nivea. Gruppe von jungen Fäden, deren eines Ende mit Hilfe des (durch Punktierung veranschaulichten) Haftkissens sich an der Unterlage festgemacht hat. — Vergr. 900. Nach Winogradsky.

Ein zweites kennzeichnendes Merkmal gegenüber der vorhin beschriebenen Gattung ist das Auftreten einer (allerdings nur schwachen) Scheidenbildung, durch welche die absterbenden Glieder zum Teil zusammengehalten werden, 10 während hingegen die *Beggiatoa*-Fäden in diesem Falle in kurze Bruchstücke und endlich in einzelne Zellen sich zerlegen.

Ein drittes Merkmal der Gattung *Thiothrix* ist die von Winogradsky als Konidienbildung 15 bezeichnete Abstoßung des obersten Fadengliedes. Die so aus dem Verbande sich ablösende, stäbchenförmige Zelle kriecht eine kurze Strecke auf der festen Unterlage weiter, erzeugt dann ein schleimiges Haftkissen und wächst zu einem 20 neuen Faden aus, von dem später gleichfalls Konidien auswandern und in seiner Nähe sich ansiedeln. Auf diese Weise entstehen die büschelförmigen weißlichen Fadenkolonien, wie sie für Thiothrix so kennzeichnend sind. 25

Auch bei dieser Gattung ist für die Zerlegung in Arten die Dicke der Fäden maßgebend. Eine von ihnen, von Winogradsky als *Thiothrix nivea* benannt, ist in der Nähe der Haftstelle 2—2,5 μ breit, in der Mitte 1,7 μ, an der Spitze 1,4—1,5 μ. Eine zweite Art zeigt fast in der ganzen Ausdehnung der Fäden den gleichen Querdurchmesser von 30 1,0—1,1 μ; sie heißt *Thiothrix tenuis* und ist wahrscheinlich übereinstimmend mit dem von Engler (1) in dem toten Grunde der Kieler Bucht aufgefundenen Spaltpilze, den jener für eine *Beggiatoa* gehalten und mit dem Artnamen *Begg. alba var. universalis* belegt hatte. Die Fäden einer dritten Art, aus der Schwefelquelle von Adelboden in der 35 Schweiz stammend und als *Thiothrix tenuissima* bezeichnet, messen gar nur 0,4—0,5 μ in der Breite. W. Zopf (1) hatte die festwachsenden Schwefelbakterien als zum Formenkreis der Beggiatoen gehörig betrachtet und als „festsitzende Beggiatoa" bezeichnet, bis dann Winogradsky nachwies, daß man es hier mit zwei voneinander verschiedenen 40 Gattungen zu tun hat.

Wie später gezeigt werden wird, ist das Leben der Schwefelbakterien an die Anwesenheit und Verfügbarkeit von freiem Sauerstoff unbedingt geknüpft. In der Art der Befriedigung dieses Bedürfnisses verhalten sich nun die beiden Gattungen verschieden. Die mit Eigen- 45 bewegung begabten Beggiatoen können ihm leichter nachkommen, weil sie willkürlich an die Oberfläche der Flüssigkeit zu gelangen vermögen. Sie sind es daher, welche in stehenden oder sehr ruhig fließenden Gewässern die Oberhand gewinnen und dort bald so eifrig sich umtun, daß von dem in das Wasser hineindiffundierenden Sauerstoff nicht viel in 50 die Tiefe gelangen kann. Die *Thiothrix*-Arten hingegen sind die Begünstigten in stark fließendem Wasser, durch welches die haltlosen Beggiatoen fortgespült werden. Im einen wie im anderen Falle entstehen

im Laufe der Zeit die für die Mehrzahl der Schwefelquellen so charakteristischen, weißlichen, schleimigen Massen.

Das Wachstum der Thiothrixarten in den Gefäßen ist sehr auffällig und von dem der Beggiatoen verschieden: sie wachsen fast immer nur 5 an der Oberfläche von stark schwefelwasserstoffhaltigen Flüssigkeiten, schleimige Büschel bildend, die, an verschiedenen auf der Oberfläche schwimmenden Gegenständen (Bakterien-Zooglöen, Schwefel- und Gipskristallen) angeheftet, in die Flüssigkeit hinabhängen. Sehr selten sind sie auch in den tieferen Schichten zu finden und zwar nur in Gesell- 10 schaft von grünen Organismen (Oscillarien und Chroococcaceen), die sich auf der Lichtseite des Gefäßes reichlich entwickelt haben.

§ 66. Farblose, nicht-fädige Schwefelbakterien.

Winogradsky hat in die von ihm aufgestellte Untergruppe der farblosen Schwefelbakterien nur zwei Gattungen fadenförmiger Organismen, 15 *Beggiatoa* und *Thiothrix*, eingeteilt. Augenscheinlich aber gibt es in der Natur eine große Reihe farbloser nicht-fädiger Schwefelbakterien, zu deren genauerer Klassifikation und Einteilung in Gattungen und Arten wir derzeit noch nicht über genügendes Material verfügen. Wir werden darum uns darauf beschränken, die diesbezüglichen Angaben 20 anderer Forscher anzuführen, ohne sie in ein System einzuordnen. Schon in der vor Jahren erschienenen Veröffentlichung von Warming (1) finden wir einen deutlichen Hinweis darauf, daß es solche Wesen gibt. Er hat zwei farblose einzellige Schwefelbakterien beschrieben und abgebildet (siehe seine Tafel X, Fig. 1 und 9) von denen das eine (*Monas Mülleri*) 25 die Gestalt einer Kugel mit einem Durchmesser von 5,6—15 μ, das andere (*Monas fallax*) hingegen die Gestalt eines Ellipsoides mit einer Länge von 4—5 μ und einer Breite von 3 μ aufwies. Diese Bakterien sind hauptsächlich in den oberflächlichen Schichten von schwefelwasserstoffhaltigen Gewässern anzutreffen und besitzen eine sehr rege Beweglichkeit.

30 Weitere Angaben über farblose, nicht-fädige Schwefelbakterien finden wir bei Jegunow (4). Er hat zwei Arten einer genaueren Untersuchung in Hinsicht auf ihre Physiologie unterworfen, worüber in dem § 68 noch berichtet werden wird. Die eine, als Spezies α bezeichnet, tritt als leicht gekrümmtes Stäbchen mit Eigenbewegung auf, dessen 35 Breite zwischen 1,4 und 2,3 μ und dessen Länge zwischen 4,5 und 9 μ verbleibt. Für die zweite, Spezies β genannt, wurden die Abmessungen von 0,6—0,8 μ bzw. 2,5—5 μ gefunden.

Im Jahre 1903 ist durch Hinze (2) eine neue Art farbloser Schwefelbakterien, die er im Golf von Neapel ausfindig gemacht hatte, beschrieben 40 worden. Unterhalb des in der Nähe von Castellamare liegenden Klosters Santa Maria a Pozzano treten submarine Schwefelquellen hervor. Der Boden des dort seichten Meeres wird von einem mit kleinen Kalkkörnchen vermischten feinkörnigen Sande bedeckt, welcher stark nach reinem Schwefelwasserstoff riecht. Bei der mikroskopischen Untersuchung 45 dieses Sandes hat Hinze ein kleines, mit Schwefeltropfen erfülltes, einzelliges, kugelförmiges Schwefelbakterium vorgefunden, welches er wegen seines Aussehens und seiner Bewegung *Thiophysa volutans* genannt hat. Der Zellendurchmesser dieses Bakteriums schwankt zwischen 7 und 18 μ. Neben diesen Kugeln kann man indes auch häufig andere Zellgestalten 50 bemerken; tritt nämlich eine Zelle in Teilung ein, so streckt sie sich

in die Länge, wird also oval und schnürt sich nun biskuitförmig ein (*Fig. 29*).

Der Schreiber dieser Zeilen konnte in den Jahren 1903—04 im Verlaufe vieler Monate ein interessantes farbloses Schwefelbakterium beobachten, welches die Gestalt eines großen, sehr beweglichen, mit Schwefelkörnern erfüllten Spirillums aufwies. Es vermehrte sich spontan am Boden eines hohen Glases, das mit Limanschlamm und Gips und darüber mit Leitungswasser beschickt war, und stieg im Gefäße als trübe Schicht zu verschiedener Höhe, je nach dem jeweiligen Schwefelwasserstoffgehalte, empor.



Fig. 29. Thiophysa volutans. *a*, kugelige, schwefelreiche Zelle, mit Jod-Jodkalium fixiert. *b*, *c*, zwei Stufen der Teilung einer Zelle, nach dem Leben gezeichnet. — Vergr. 900. Nach HINZE.

Die Gruppe der nicht-fädigen farblosen Schwefelbakterien ist bisher noch wenig untersucht worden; man darf jedoch annehmen, daß mit der Zeit die Anzahl der ihr zuzuteilenden Arten eine ebenso große werden wird, wie die der Purpurbakterien, von welchen der folgende Paragraph handelt. Auf diese Weise wird die jetzige, als physiologische Klassifikation zutreffende Einteilung der Schwefelbakterien in zwei große Familien, die roten und die farblosen, also nach dem physiologischen Merkmale von Anwesenheit oder Abwesenheit von Farbstoff, nach und nach einer rein morphologischen Systematik dieser Bakterien, einer Einteilung in Faden-, Kokken-, Stäbchen-, Spirillen-Formen usw. den Platz räumen müssen.

§ 67. Die roten Schwefelbakterien.

Im Jahre 1826 bemerkte EHRENBERG auf einem Spaziergange in der Umgebung von Jena in einem Bassin des Baches handbreite rote Flecke, die er aus ungeheuren Schwärmen eines einzelligen, zylindrischen, mit einer Geißel versehenen Organismus von 10—15 μ Länge und 5 μ Breite zusammengesetzt befand, den er *Monas Okenii* benannte. PERTY (1) hat dann später diese Art mit ähnlichen anderen zur neuen Gattung *Chro-*



Fig. 30. Chromatium Okenii. — Vergr. 600. Nach COHN.



Fig. 31. Monas Warmingii. — Vergr. 600. Nach COHN.

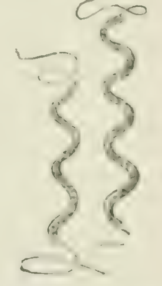


Fig. 32. Spirillum volutans. — Vergr. 600. Nach COHN.

matium vereint, und so wurde unsere *Monas* mit der seither in Gebrauch gebliebenen Bezeichnung *Chromatium Okenii* belegt. Die *Fig. 30* gibt davon ein Bild. Ein dem *Chromatium Okenii* ähnlicher Organismus ist von WARMING (1) an der seeländischen Küste aufgefunden und dann von 5 COHN näher untersucht und als *Monas Warmingii* (*Fig. 31*) benannt worden. Der Vorschlag von PERTY betreffend die Gattungsbezeichnung *Chromatium* scheint also bei dem Breslauer Bakteriologen keinen Anklang gefunden zu haben.

Während die bisher angeführten Arten sich wohl in Hinsicht auf 10 Größe, jedoch nicht wesentlich in der Gestalt voneinander unterscheiden, sondern alle mehr oder weniger den in der Figur dargestellten plumpen Kurzstäbchen entsprechen, zeigt eine zweite Gruppe von gleichfalls 15 hierher gehörigen Arten die Wuchsform *Spirillum*. Ein Beispiel dafür ist das in *Fig. 32* abgebildete *Spirillum volutans*, 20 ein zweites ist die von EHRENBERG beschriebene *Ophidomonas* (*Fig. 33*).



Fig. 33. Ophidomonas sanguinea. — Vergr. 600. Nach COHN.

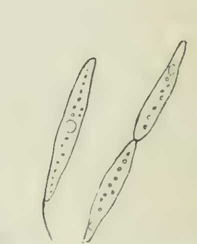


Fig. 34. Rhabdomonas rosea. — Vergr. 600. Nach COHN.

Eine dritte Untergruppe endlich umfaßt 25 Organismen von gestreckt - spindelförmiger Gestalt, deren Umriß also dem eines Wetzsteines gleicht, z. B. die 4—5 μ breite und 20—30 μ lange *Rhabdomonas rosea* (*Fig. 34*), welche Spezies zuerst von COHN bemerkt 30 und beschrieben worden ist.

Ueber die Zerlegung der Familie der *Rhodobacteriaceae* (Purpurbakterien) in Unterfamilien nach WINOGRADSKY ist schon auf Seite 146 des Ersten Bandes dieses Handbuches berichtet worden. Den bedeutendsten Beitrag zur Morphologie dieser Organismen findet man in 35 den Untersuchungen von WINOGRADSKY (2). Da wir aber hier mit einem relativ großen Formenkreis es zu tun haben, der zu seinem Verständnis eine große Anzahl von Abbildungen erheischen würde, so müssen wir leider der Raumersparnis wegen auf die morphologische Charakterisierung der einzelnen Arten dieser Gruppe verzichten und auf die 40 Originalarbeit verweisen.

RAY LANKESTER behauptete, alle diese Wesen seien nur besondere Wuchsgestalten ein und derselben Spaltpilzart, für die er den Namen *Bacterium rubescens* vorschlug. Die Begründung dieser Annahme war jedoch eine sehr ungenügende, denn sie stützte sich hauptsächlich auf 45 die (übrigens durchaus nicht völlig überzeugend dargelegte) Gleichheit (bzw. Einerleiheit) des roten Farbstoffes, welcher diesen Wesen eigen ist und der von LANKESTER den Namen Bacteriopurpurin erhalten hat. Der englische Forscher fand i. J. 1875 Zustimmung bei WARMING, welcher seinerseits eine große Anzahl der von ihm beobachteten roten 50 Schwefelbakterien zu einer einzigen Art, nämlich dem *Bacterium sulfuratum*, zusammenfaßte. Noch weiter als diese beiden ging dann ZOPF, welcher im Jahre 1882 alle diese Wesen als besondere Wuchsgestalten einer einzigen Art von Fadenbakterie, nämlich der *Beggiatoa roseo-persicina*

erklärte, welche unter gewissen Umständen langfädig, als *Leptothrix*, auftrete, unter anderen aber Teilstücke abgliedere, welche dann als *Monas*, als *Spirillum* etc. sich zeigen, die ihrerseits wieder zu Fäden auswachsen können. Die durch Winogradsky vorgenommene Ueberprüfung dieser Befunde hat zur Widerlegung der angenommenen Vielgestaltigkeit und zu der Feststellung geführt, daß den oben genannten roten Schwefelbakterien eine Pleomorphie im Sinne von Zopf nicht zukommt.

Ueber die **Eigenschaften des Bacteriopurpurins** werden einige Angaben wohl am Platze sein. Die Schwierigkeit der Gewinnung einer für die Anstellung von chemischen Analysen ausreichenden Menge davon ist bis heute noch nicht besiegt worden; man ist darum über dessen chemische Zusammensetzung noch völlig im Unklaren und kann nicht einmal mit Bestimmtheit behaupten, daß in allen roten Schwefelbakterien der gleiche Farbstoff anwesend ist. Man vermutet dies auf Grund der übereinstimmenden Ergebnisse der in den einzelnen Fällen damit vorgenommenen chemischen Reaktionen, von denen einige nun angeführt seien. Der Farbstoff ist unlöslich in Wasser und in Aether, löslich in kaltem Alkohol (wie Winogradsky gegenüber der gegenteiligen Angabe von Lankester gefunden hat), wird durch Erwärmen in Wasser, wie auch durch Chloroform, in eine goldbraune, durch heißen Alkohol, durch Salzsäure und durch Essigsäure in eine braune Verbindung umgewandelt, während Ammoniak oder Kalilauge anfänglich ohne sichtliche Wirkung bleiben und endlich langsam einen schmutzigen Farbenton erzeugen. Konzentrierte Schwefelsäure verwandelt das Rot fast augenblicklich in ein tiefes Blau, das dann in den darauf folgenden Stunden allmählich in Bräunlich-Grün sich abtönt. Diese Reaktion ist jener ähnlich, welche durch das gleiche Reagens bei den Lipochromen hervorgerufen wird. Durch oxydierende Körper (z. B. verdünnte Salpetersäure oder Bromwasser) wird das Bacteriopurpurin sehr rasch zerstört. Auf seine Entstehung scheint die Anwesenheit von Eisen und Mangan einen förderlichen Einfluß auszuüben, was man aus der Tatsache folgert, daß der Zusatz der Sulfüre des einen oder des anderen dieser Metalle zu der Nährlösung viel kräftigere Färbung der Zellen hervorruft. Die Empfindlichkeit des Bacteriopurpurins gegenüber chemischen Einwirkungen macht es auch erklärlich, daß der Farbenton ein und derselben Zelle je nach den äußeren Bedingungen sich ändert und in allen Uebergängen von reinem Violett zu Purpur, Pfirsichblütenrot, Rosa, Orange, Braunrot und Braun sich zeigen kann. Dieses Pigment ist von Engelmann (3) als ein echtes Chromophyll angesehen worden, durch welches also die Purpurbakterien befähigt sind, im Licht Sauerstoff auszuscheiden. Da aber von diesem Autor über denselben Gegenstand eine diametral entgegengesetzte Angabe vorliegt (Engelmann [1]) und von keiner Seite mehr eine Nachprüfung stattgefunden hat, so kann die Engelmann'sche Angabe vorläufig nicht als feststehend angesehen werden.

In der Natur sind die roten Schwefelbakterien nicht immer an gleichen Standorten mit farblosen anzutreffen. Zwar ist von mehreren Forschern eine reichliche Entwicklung der roten Bakterien in den Schwefelquellen beobachtet worden, doch ist deren Vorkommen da bei weitem nicht so ständig wie das der farblosen (fadenförmigen). Unter natürlichen Verhältnissen erlangen die Purpurbakterien gewöhnlich an solchen Orten die Oberhand, an denen infolge reichlicher Zersetzung von organischen Substanzen oder durch kräftige Reduktion von Sulfaten große Mengen von Schwefelwasserstoff sich entwickeln. Dies ist z. B.

in den stillen seichten Meeresbusen und in den Limanen der Fall. Auch in Tümpeln und Lachen sind diese Organismen nicht selten zu treffen und manchmal so reichlich vorhanden, daß durch sie das Wasser rot gefärbt ist. CHARLES MORREN (1) hat über solche Fundorte eine Reihe 5 von Beobachtungen angestellt.

Sehr charakteristisch und von dem der *Beggiatoa* ganz abweichend ist ihr Verhalten in Massenzuchten. Alle Beobachter ohne Ausnahme, die sich mit diesen Organismen befaßt haben, bemerkten, daß sie sich an der Lichtseite des Gefäßes ansammeln und die dem Fenster zuge- 10 kehrte Gefäßwand mit einer zusammenhängenden, lebhaft gefärbten Haut ganz bekleiden. Die farblosen Schwefelbakterien zeigen nichts Aehnliches; die mit freier Bewegung ausgestatteten, wie die Beggiatoen, verhalten sich entweder indifferent zum Lichte oder sind sogar lichtscheu. Bemerkenswert ist weiter, daß jene rote Haut in einer nach Schwefel- 15 wasserstoff äußerst stark riechenden Flüssigkeit sich bis zum Boden tiefer Gefäße erstreckt, wohin von außen kein Sauerstoff zutreten kann, und in der Tiefe sogar schöner und dicker ist. Ein solches Verhalten ist wieder nur den roten Schwefelbakterien eigentümlich und zeigt, daß ihr Sauerstoffbedarf ein viel geringerer als der der farblosen Schwefel- 20 bakterien sein muß. Sie begnügen sich mit den geringen Sauerstoffmengen, welche die in den nach Schwefelwasserstoff riechenden Infusen sich massenhaft entwickelnden chlorophyll- oder richtiger phycochromhaltigen Organismen ausscheiden; die Sauerstoff-Moleküle müssen im Momente ihrer Ausscheidung aufgefangen werden, sonst werden sie so- 25 fort zur Oxydation von Schwefelwasserstoff verbraucht.

§ 68. Physiologie der Schwefelbakterien.

Das wahre Wesen jener rundlichen, das Licht stark brechenden Einschlüsse, durch welche allein schon diese Spaltpilze das Auge des Mikroskopikers gefangen nehmen, ist zuerst von CRAMER erkannt worden, 30 dessen Befunde in einer Abhandlung von C. MÜLLER (1) niedergelegt sind. Es wurde darin festgestellt, daß diese Körnchen sich gegen Lösungsmittel genau so verhalten wie **Schwefel**, und daraus der Schluß gezogen, daß sie aus diesem Elemente bestehen. Die Ausdehnung dieser (nur an den Beggiatoen vorgenommenen und von J. MAYER-AHRENS über- 35 prüften) Untersuchung auch auf die roten Schwefelbakterien durch COHN (7) führte zu dem gleichen Ergebnisse: die Körnchen, welche in dem Plasma dieser farbigen Spaltpilze unter gewissen, noch zu erörternden Bedingungen auftreten, sind aus reinem Schwefel aufgebaut. Die Bezeichnung dieser Gebilde als „Körnchen“ ist insofern nicht zutreffend, als sie, wie 40 dann später WINOGRADSKY (1) dargetan hat, nicht körnig-fest sondern ölig-weich sind, aus amorphem (zum größten Teile in Schwefelkohlenstoff löslichem) Schwefel bestehen. Sie gehen jedoch in dem Falle langsam in die kristallinische Abart dieses Elementes über, wenn man die sie einschließenden Zellen abgetötet hat. Taucht man einige an diesen 45 Tröpfchen reiche *Beggiatoa*-Fäden in konzentrierte Pikrinsäure und legt sie dann in Wasser ein, so kann man nach Ablauf von 24 Stunden sehr hübsche, monoklin-prismatische Täfelchen und rhombische Oktaeder in den Fäden auffinden und zugleich bemerken, daß die wachsenden Kristalle die benachbarten Zellwände durchrissen haben.

50 Die Frage nach der **Entstehungsweise** dieser Inhaltsbestandteile,

welche unter Umständen die Zellen so stark erfüllen, daß diese mit ihnen ganz vollgestopft sind, ist zuerst von Cohn in Betracht gezogen worden. Von der Tatsache ausgehend, daß die Schwefelbakterien nur in solchen Gewässern sich reichlich vorfinden, welche Schwefelwasserstoff enthalten, daß sie hingegen an allen anderen Orten in der Natur geradezu fehlen, kam er zu der Meinung, daß dieses Gas aus den Sulfaten der Gewässer infolge der reduzierenden Tätigkeit der in Rede stehenden Spaltpilze hervorgehe, welch letztere dieses Gas dann später wieder oxydieren, wobei Schwefel entstehe, der in den Zellen abgelagert werde. Zu dieser Ansicht war er hauptsächlich durch das Ergebnis eines von Lothar Meyer (1) angestellten Versuches geführt worden. Dieser hatte eine Probe des an Beggiatoen reichen Wassers der Schwefelquelle zu Landeck in Schlesien in einer Flasche verschlossen vier Monate lang aufbewahrt und hierauf dessen Gehalt an Schwefelwasserstoff fünfmal so hoch befunden als zu Anfang. Zu dem gleichen Schlusse wie Cohn sind Plauchud (1) wie auch Etard und Olivier (1) gelangt. Diese Annahme, welche den Schwefelbakterien eine reduzierende Tätigkeit zuschrieb, wurde erst von Hoppe-Seyler (1) als augenscheinlich fehlerhaft verworfen. Nach seiner Meinung hat die Einlagerung von Schwefelkörnchen in die Beggiatoazellen mit Reduktionsprozessen nichts zu tun. „Dies Auftreten der Schwefelkörnchen beweist ganz bestimmt, daß in den Beggiatoen Schwefelwasserstoff unter Schwefelausscheidung zersetzt wird, und dieser Prozeß kann nur als Oxydations- nicht als Reduktionsprozeß aufgefaßt werden." Jedoch hat er diese Frage nur beiläufig berührt; unwiderleglich dargetan hat diese Annahme erst Winogradsky, indem er durch direkte Versuche und Beobachtungen zeigte, daß die Schwefelbakterien den Schwefelwasserstoff nicht erzeugen sondern verbrauchen und daß sie nur dann Schwefeltropfen innerhalb ihrer Zellen ablagern, wenn der Nährboden Schwefelwasserstoff enthält. In Anwesenheit von Sulfaten bilden sie nicht nur keinen Schwefelwasserstoff, sondern können überhaupt nicht fortbestehen und sterben infolgedessen ebenso rasch wie in anderen, von diesem Gase freien Unterlagen ab. Ist aber dieses letztere vorhanden, dann wachsen und vermehren sich die Schwefelbakterien vortrefflich. Sie oxydieren den Schwefelwasserstoff und speichern den daraus abgespaltenen Schwefel in ihren Zellen auf.

Der Schwefel ist eine Zwischenstufe der Oxydation des Schwefelwasserstoffes zu Schwefelsäure, eines Prozesses, der eine große Menge von freier Energie verfügbar macht: 12,6 große Kalorien liefert die Oxydation der wässerigen Lösung von Schwefelwasserstoff zu Schwefel und 207 gr. Kal. die Oxydation des Schwefels zu Schwefelsäure. Der Gang der Oxydationsprozesse, welche die Schwefelbakterien vollziehen, kann folgendermaßen dargestellt werden:

1) $2H_2S + O_2 = 2H_2O + S_2$
2) $S_2 + 3O_2 + 2H_2O = 2H_2SO_4$.

Die Schwefelsäure wird durch die vorhandenen Karbonate, gewöhnlich $CaH_2(CO_3)_2$, gleich neutralisiert und in Form von Sulfaten ausgeschieden. Es werden also durch die Tätigkeit der Schwefelbakterien die Karbonate der Unterlage in Sulfate umgewandelt.

Der Gehalt der Zellen an Schwefel hängt von den äußeren Bedingungen ab und kann darum nicht als ein Merkmal für die Artenbestimmung herangezogen werden, wie dies zuvor verschiedene Forscher,

z. B. auch Winter in Rabenhorst's „Kryptogamen-Flora" und Engler, versucht hatten. Doch hat Arzichowsky (1) in neuerer Zeit wieder die Art der Verteilung des Schwefels in der Zelle der Beggiatoen als ein gutes Unterscheidungsmerkmal der Arten dieser Gattung hingestellt.

Wenn der Schwefelwasserstoff für längere Zeit den Schwefelbakterien unzugänglich bleibt, so verbrennen sie ihren Vorrat an aufgespeichertem Schwefel, was binnen 24—48 Stunden geschehen ist, und sterben dann Hungers. Diese Tatsache zeigt, daß diese Spaltpilze den Schwefelwasserstoff auf die Dauer nicht entbehren können; ja er ist ihnen sogar die eigentliche (auch fast ausschließliche) Quelle von Spannkraft. Der Schwefel, bzw. seine Wasserstoffverbindung, spielt bei diesen Wesen jene Rolle, welche bei den meisten anderen Spaltpilzen organischen Kohlenstoffverbindungen zukommt. Nach den Beobachtungen von Winogradsky verbraucht der einzelne Beggiatoafaden davon täglich das Doppelte bis Vierfache seines eigenen Gewichtes. Was ihr Verhalten den organischen Nährstoffen gegenüber betrifft, so lassen die Untersuchungen von Winogradsky an Nitrifikationsbakterien vermuten, daß die Schwefelbakterien zu ihrem Fortkommen keine organische Substanz bedürfen und daß also ihre Ernährungsweise, nach Art der Nitritbakterien, eine rein mineralische sein kann. Sie können von jener auch nicht viel vertragen. Damit erklärt sich einerseits ihr (im Verhältnis zur Größe der Schwefelabspaltung) ungemein langsames Wachstum, andrerseits auch ihre Unfähigkeit, auf den in der Bakteriologie gewöhnlich gebräuchlichen Nährböden zu gedeihen; z. B. auf Gelatine sterben sie binnen wenigen Minuten ab. Von ihnen Reinzuchten in größeren Mengen herzustellen, ist darum bis heute nicht gelungen, und die durch Winogradsky erzielten Feststellungen betreffend deren Physiologie haben alle auf recht mühsame Weise, durch Züchtung je einiger Einzelwesen in einem mit Deckglas bedeckten Tropfen auf einem gewöhnlichen Objektträger, welcher zwischen den Beobachtungen in einer feuchten Kammer gehalten wurde, gewonnen werden müssen. Einige in den Tropfen gestreute Deckglassplitter dienten dazu, den Deckglasdruck bei einem möglichen teilweisen Eintrocknen der Flüssigkeit aufzuheben und den Sauerstoffzutritt wie das Durchsaugen von frischer Flüssigkeit zu erleichtern. Auf diese Weise konnte Winogradsky verschiedene Schwefelbakterien wochenlang, ja selbst monatelang züchten, indem er die Flüssigkeit so oft erneuerte, als es sich für ein gutes Wachstum der beobachteten Organismen als notwendig erwies.

Der günstige bzw. der noch zuträgliche Gehalt des Wassers an Schwefelwasserstoff ist für die roten Schwefelbakterien höher als für die farblosen, fädigen. Diese letzteren verlangen davon weniger und sterben augenblicklich ab, wenn man sie in Wasser bringt, welches mit diesem Gase gesättigt ist. Die roten Arten hingegen vertragen auch dieses noch ganz gut.

Das Leben der Schwefelbakterien erheischt die Verfügbarkeit und gleichzeitige Anwesenheit zweier Gase, welche einander infolge der Oxydation des Schwefelwasserstoffes zu Wasser und Schwefel gegenseitig ausschließen, so daß auch tatsächlich auf Flüssigkeiten, in denen jenes Gas in reichlicher Menge durch reduzierende Bakterien erzeugt wird, eine feine Decke von Schwefel sich ausscheidet, die auf rein chemischem Wege entstanden ist. Dadurch sind die Lebensbedingungen dieser Organismen so eigenartig, daß es nicht geringe Schwierigkeiten hat, sie unter gewöhnlichen Züchtungsbedingungen, in einer abgemessenen Flüssigkeits-

menge, zum Wachstum zu bringen. Sollen nun die Schwefelbakterien ihre oxydierende Tätigkeit entfalten, so müssen sie den Schwefelwasserstoff bzw. Sauerstoff aus räumlich getrennten Teilen der Unterlage schöpfen und folglich sich zweckmäßig in jenen Grenzschichten der Flüssigkeit aufhalten, zu denen von oben her der Sauerstoff und von unten her der Schwefelwasserstoff vordringt. Diese Eigentümlichkeit der Schwefelbakterien, tritt besonders deutlich in einer Objektträgerzucht hervor (Winogradsky [1]). Enthält die Flüssigkeit keinen Schwefelwasserstoff, so sammeln sie (*Beggiatoa*) sich möglichst weit vom Tropfenrande und bilden beinahe im Zentrum des Tropfens einen dichten Knäuel; setzt man jetzt eine schwefelwasserstoffhaltige Flüssigkeit zu, so beginnen sie gleich nach dem Tropfenrande hin zu wandern, wo sie nach einigen Stunden einen dicken, weißen, mit bloßem Auge sichtbaren Saum bilden. Wenn bei der Zucht im Großen die Entwicklung des Schwefelwasserstoffes eine reichlichere wird, hebt sich die Oxydationsgrenze des Schwefelwasserstoffes und kann bis zur Oberfläche emporsteigen; anderenfalls senkt sie sich und nähert sich dem Grunde der Flüssigkeit, wo der Schwefelwasserstoff erzeugt wird. Dieser Verschiebung des Ortes der möglichen Nahrungsaufnahme kann jedoch irgend eine bestimmte Art der Schwefelbakterien nicht immer auch folgen, denn ebenso, wie hinsichtlich des Schwefelwasserstoffes schon dargelegt worden ist, sind diese Wesen auch hinsichtlich des Sauerstoffes auf eine bestimmte Spannung gestimmt, d. h. sie vertragen davon nur eine begrenzte

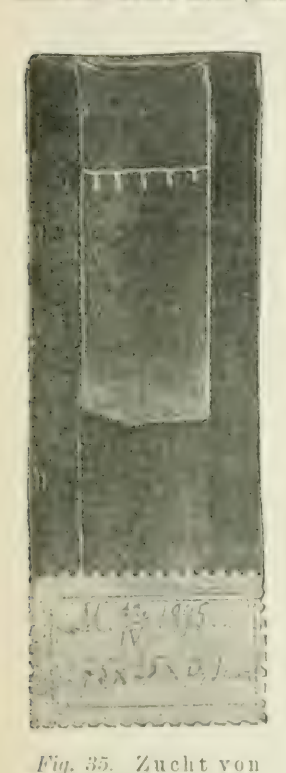


Fig. 35. Zucht von Schwefelbakterien aus den Limanen in schmalem Gefäße; in verkleinertem Maßstabe. Die Zahlen des Täfelchens geben die Abmessungen an, also Dicke der Flüssigkeits-Schicht 0,9 mm. Zu unterst schwarzer Liman-Schlamm; darüber die Flüssigkeit, deren gekrümmte Oberfläche eben noch am oberen Rande der Figur sichtbar ist; dazwischen die Bakterienplatte mit fünf Fontainen. — Nach Jegunow.



Fig. 36. Ein Teil der Bakterienplatte der vorhergehenden Figur, den bogigen Bau der Platte selbst wie auch vier von ihren Fontainen zeigend. — Vergr. 11. Nach Jegunow.

(und für die verschiedenen Arten verschieden große) Menge in der Raumeinheit Flüssigkeit. Diese Spannung ist nun hinsichtlich des Sauerstoffes am größten an der Oberfläche, geringer in tieferen Schichten. Man wird erkennen, daß schon die bloße Aenderung des Luftdruckes der Atmosphäre genügt, um in dem artenreichen Gemisch von Schwefelbakterien natürlicher Fundorte einen Wechsel in der Vorherrschaft herbeizuführen. Das Gleiche gilt von der Lebhaftigkeit der Entwicklung von Schwefelwasserstoff.

Einen hübschen Einblick in diese Verhältnisse verdanken wir den Untersuchungen Jegunow's (1—7), welche die schon im § 66 gekennzeichneten farblosen, nicht-fädigen Arten zum Gegenstand gehabt haben. Wie zuvor gesagt, ist der Ort der Sammlung der Schwefelbakterien jene Höhenschicht der Flüssigkeit, in welcher der Sauerstoff von oben her und der Schwefelwasserstoff von unten her zusammentreffen. Dort nun drängen sich diese Wesen zu einer auch dem freien Auge auffallenden Gesellschaft zusammen, welche durch den eben genannten russischen Forscher als **Bakterienplatte** bezeichnet und auf ihren Aufbau näher untersucht worden ist. Er hat die in den Limanen sich abspielenden Vorgänge, soweit sie hier in Betracht kommen, im kleinen im Laboratorium sich wiederholen lassen, z. B. derart, daß er von dem schwarzen Schlamme eine gewisse Menge in Gefäße brachte, diese mit Wasser bedeckte und stehen ließ. Auf das nun auch von ihm beobachtete und durch die Aenderung des Schwefelwasserstoff-Gehaltes der Flüssigkeit auch künstlich hervorrufbare Heben und Senken der Bakterienplatte soll nicht näher eingegangen werden, weil darüber schon zwei Jahre vorher Beijerinck ähnliche Versuche angestellt und für eine derartige Ansammlung den Namen *Bakterienniveau* vorgeschlagen hat, so daß also dasselbe Ding nun doppelnamig ist.

Als neu zu bezeichnen sind jedoch Jegunow's (4) Feststellungen betreffend den Bau dieser *Bakterienplatte* bei den hier in Rede stehenden Wesen. Züchtet man sie in hoher und breiter aber dünner Flüssigkeitsschicht, so entwickelt sich die Platte in der in der *Fig. 35* in verkleinertem Maßstabe wiedergegebenen Gestalt: die Bakterien bilden also nicht eine einfache Platte, sondern sind stellenweise zu quästchenähnlichen Fortsetzungen (von je 3—4 mm Länge) angehäuft. Vier von diesen sind in der *Fig. 36* in vergrößertem Maßstabe abgebildet. Diese Quästchen, mit Hilfe eines wagrecht aufgestellten Mikroskopes untersucht, ließen erkennen, daß sie auf die Weise entstehen, daß die einzelnen Bakterien eine Bewegung vollführen ähnlich dem Wasser eines Springbrunnens: sie steigen in der Achse des Quästchens nach unten und kehren dann im Bogen wieder zur Platte zurück. Im bildumkehrenden Mikroskope ist diese Aehnlichkeit noch auffälliger, so daß Jegunow diese Platte als *Fontänenplatte* bezeichnet hat. Die Geschwindigkeit der Bewegung der einzelnen Zelle befand er zu 0,02 mm in der Sekunde. Zur Verfolgung der chemischen Tätigkeit der Bakterien bediente er sich eines einfachen und zuverlässigen *Reagens auf Schwefelwasserstoff*: Ein feiner Faden (aus Wolle u. dgl.) wird zuerst mit Eisenchlorid, dann mit Ammoniak behandelt, beide in so starker Verdünnung, daß der Faden dadurch bloß blaßgelb gefärbt wird. An diesem befestigt man ein Glasgewichtchen und führt ihn dann in die Flüssigkeit ein. Dessen unterer Teil bis zum Scheitel des Quästchens der Fontänenplatte färbt sich binnen wenigen Minuten schwarz infolge der Bildung von Schwefeleisen; von da an ändert sich seine Farbe all-

mählich in weiß. Dieser Versuch läßt erkennen, daß im Scheitel des Quästchens der von unten zutretende Schwefelwasserstoff zuerst zu Schwefel oxydiert, in der Zelle aufgespeichert, von ihr nach oben (in die eigentliche Platte) gebracht und dort zu Schwefelsäure verbrannt wird, welche dann das Eisenoxyd des oberen Fadenstückes auflöst und somit dieses letztere entfärbt. Die Zeitdauer des einmaligen Umlaufes einer Zelle, also auch die Gesamtdauer der Ueberführung des Schwefelwasserstoffes in Schwefelsäure und der letzteren Ausstoßung aus der Zelle, ist von Jegunow zu ungefähr 5 Minuten bestimmt worden. Die von Jegunow (1) ausgeführten Bestimmungen der Schwefelsäure und des Schwefelwasserstoffes oberhalb und unterhalb der Platten haben gezeigt, daß die Menge der Schwefelsäure oberhalb der Platte drei bis fünf Mal so groß ist, die des Schwefelwasserstoffes aber um denselben Wert kleiner ist, als unterhalb der Platte, während die Gesamtmenge des Schwefels (als Schwefelsäure berechnet) in beiden Schichten der Zuchtflüssigkeit ungefähr dieselbe bleibt. — „In den Limanen," schreibt Jegunow (4), „wo die Tiefe einige Ssaschen (Klafter) nicht übersteigt, liegen die Schwefelbakterien auf dem Boden, dessen Oberfläche oxydiert, d. h. von grauer (aber nicht schwarzer) Farbe ist. Mit zunehmender Tiefe ist der Sauerstoffzutritt verringert und im Schwarzen Meere, bei einer Tiefe von 200 Metern, wo das Wasser schon mit Schwefelwasserstoff infiziert ist, sind die Schwefelbakterien gezwungen, den Boden zu verlassen, ins Wasser überzugehen und eine dünne Schicht zu bilden, welche sich wahrscheinlich übers ganze Meer ausbreitet."

Die Gesamtheit der biologischen und physiologischen Eigenschaften der Schwefelbakterien, ihr Stoff- und Kraftwechsel, erscheint also, allem oben Gesagten gemäß, als eine sehr eigentümliche Anpassung an Daseinsbedingungen, welche für andere Organismen fast völlig ungeeignet sind, und schließt darum fast vollkommen jede Konkurrenz durch andere Wesen aus. „Es bilden also die Schwefelbakterien", sagt Winogradsky (1), „eine scharf charakterisierte physiologische Gruppe, einen physiologischen Typus, der wesentlich von dem allgemeinen abweicht. Ihre Lebensprozesse spielen sich nach einem viel einfacheren Schema ab; durch einen rein anorganischen chemischen Prozeß, den der Schwefeloxydation, werden alle ihre Lebensbewegungen im Gange erhalten." Darum hat Winogradsky diese Organismen Schwefelbakterien genannt.

§ 69. Die Oxydation der Thiosulfate zu Tetrathionsäure und Schwefelsäure.

Durch die Untersuchungen Nathansohn's (1) sind unsere Kenntnisse von den Schwefelbakterien um eine neue Gruppe von Wesen bereichert worden, welche sich in ihrem Stoffwechsel von den oben beschriebenen echten Schwefelbakterien wesentlich unterscheiden. Ihre Oxydationskraft ist bedeutend schwächer als bei diesen, da sie nur imstande sind, Thiosulfate zu Tetrathionsäure und Schwefelsäure zu oxydieren. Auch morphologisch unterscheiden sie sich scharf von den echten Schwefelbakterien, da bei ihnen niemals intracelluläre Ausscheidung von Schwefel stattfindet. Man ist also wohl berechtigt, diese Gruppe von den echten Schwefelbakterien abzuscheiden und mit einem besonderen Namen zu belegen. Wir schlagen dafür „Thionsäurebakterien" vor.

Zum ersten Male hat NATHANSOHN eine Zucht dieser Organismen erhalten, als er Seewasser, das mit einem Zusatz von Schwefelkalium versehen war, mit einem Materiale beimpfte, in welchem große, farblose, bewegliche Schwefelbakterien sich befanden, in der Hoffnung, diese würden 5 sich darin weiter entwickeln. Dies unterblieb; dagegen beobachtete NATHANSOHN dicht unter der Oberfläche der Nährlösung eine Ansammlung kleiner, lebhaft beweglicher Bakterien, die aber keine Schwefeltropfen im Innern aufwiesen. Ein für die Züchtung dieser Spaltpilze wie für das Studium ihres Stoffwechsels in gleicher Weise günstiger 10 Nährboden ist eine Auflösung von 0,1—1 Proz. unterschwefligsauren Natrons (Natriumthiosulfat, $Na_2S_2O_3$) in Seewasser oder in einer Salzlösung von folgender Zusammensetzung: 3 Proz. NaCl, 0,25 Proz. $MgCl_2$, 0.1 Proz. KNO_3 und 0,5 Proz. Na_2HPO_4 mit Zusatz von etwas Magnesiumkarbonat. Nach Beimpfung solcher Nährlösungen mit geeignetem Ma- 15 terial, z. B. kleinen Mengen schwefelwasserstoffhaltigen Schlammes aus dem Meeresboden in der Nähe der Küste (bei Neapel), zeigte sich nach 1—2 Tagen auf der Oberfläche der Flüssigkeit ein weißes Häutchen, welches zum Teil aus Tröpfchen öligen, amorphen Schwefels, wie er bei der Oxydation von Schwefelwasserstoff gebildet wird (WINOGRADSKY), 20 zum Teil aus einfachen stäbchenförmigen Bakterien zusammengesetzt war. Wurde mit solcher Lösung Agargallerte hergestellt, so ließen sich die Organismen mit der gleichen Leichtigkeit wie jedes andere Bakterium auf Platten rein züchten und in Stichzuchten vermehren. In PETRI-Schalen angelegte Platten weisen, je nach der Art in 1—3 Tagen, Ko- 25 lonien auf, die je nach der Menge des ausgeschiedenen Schwefels entweder weiß und opak oder durchscheinend und irisierend aussehen.

Durch genaue chemische Analyse der Flüssigkeit, welche anfänglich nur Thiosulfat als für die Entwicklung der in Rede stehenden Bakterien förderliche schwefelhaltige Substanz zu bieten hatte, konnte NATHANSOHN 30 feststellen, daß sie jenes Salz eingebüßt und sich dagegen mit Tetrathionsäure und Schwefelsäure bereichert hatte, wobei zu gleicher Zeit ein bedeutender Teil des Schwefels als solcher ausgeschieden wurde. Nach NATHANSOHN besteht die exothermische Reaktion, welche dieser Bakterienart als Quelle der Lebensenergie dient, in einer Oxydation von Thio- 35 sulfat zu Tetrathionsäure und Schwefelsäure und kann durch nachfolgende Gleichung veranschaulicht werden:

$$3\,Na_2S_2O_3 + 5O = Na_2S_4O_6 + 2\,Na_2SO_4.$$

Was die Schwefelausscheidung anbetrifft, so kann sie durch eine sekundäre Reaktion zwischen dem unzersetzt gebliebenen Thiosulfat und 40 der neugebildeten Tetrathionsäure erklärt werden und spielt in dem Stoff- uud Kraftwechsel der Bakterien durchaus keine Rolle. Je nach der Konzentration der genannten Salze kann die Schwefelausscheidung, zugleich also auch die Bildung von schwefliger Säure, mehr oder weniger rasch vor sich gehen.

45 In der obenerwähnten Lösung von Mineralsalzen entwickeln sich diese Bakterien nur unter freiem Zutritt von Kohlensäure aus der Luft oder in Anwesenheit von Karbonaten. Durch Glucose, Harnstoff und andere organische Substanzen kann die Kohlensäure nicht ersetzt werden, obgleich jene auch nicht schädlich einwirken. Hieraus kann man 50 schließen, daß diese Bakterien nicht die Fähigkeit haben, organische Verbindungen zu Kohlensäure zu oxydieren, und daß folglich hier eine anorganische Verbindung, das Thiosulfat, ganz jene Rolle spielt, die sonst den Kohlenstoffverbindungen im Atmungsstoffwechsel zukommt.

Auf die Frage nach der Bedeutsamkeit dieser Bakterien in der Natur und nach den Ausgangs- und Endprodukten ihres Stoffwechsels unter natürlichen Verhältnissen kann derzeit kaum eine bestimmte Antwort gegeben werden. Es ist möglich, daß sie die im Seewasser (als Ergebnis der freiwilligen Oxydation von Alkalisulfiden und Sulfhydraten) enthaltenen Thiosulfate, welche für sie ein so vortrefflicher Nährstoff sind, oxydieren. Vielleicht aber können sie auch unmittelbar die Sulfide zu Tetrathionsäure und Schwefelsäure oxydieren.

Eine ähnliche Oxydation der Thiosulfate durch Bakterien hat neuerdings BEIJERINCK (3) im Meereswasser an der holländischen Küste und in Süßwasser beobachtet. Er füllte einen Kolben mit einer nicht zu dicken Schicht der folgenden Nährlösung, welche keine andere Kohlenstoffquelle wie Natriumbikarbonat und als Energiequelle Natriumthiosulfat enthalten hat: 0,5 Proz. $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$, 0,1 Proz. $NaHCO_3$, 0,02 Proz. K_2HPO_4, 0,01 Proz. NH_4Cl und 0,01 Proz. $MgCl_2$. Nach der Impfung (ohne vorherige Sterilisation) mit einer reichlichen Menge Graben- oder Kanalwasser oder mit einer Spur Grabenschlamm bedeckt sich (nach 2—3 Tagen bei 28—30° C) die Oberfläche der Kulturflüssigkeit mit einer Schicht freien Schwefels, welche dicht von Bakterien durchsetzt ist. Die hierbei stattfindende Oxydation des Thiosulfates:

$$Na_2S_2O_3 + O = Na_2SO_4 + S$$

ist exothermisch und kann also als Energiequelle fungieren, welche zur Kohlensäurezerlegung Veranlassung gibt.

Das Thiosulfat läßt sich durch Schwefelwasserstoff oder besser durch Schwefelcalcium ersetzen. Etwas schwieriger gelingt der Versuch mit Tetrathionat nach der Formel:

$$Na_2S_4O_6 + Na_2CO_3 + O = 2Na_2SO_4 + CO_2 + S_2.$$

Die Reinkultur sowohl der Süßwasserform wie auch der an den niederländischen Küsten ganz allgemeinen Meeresform gelingt auf ähnliche Weise, wie schon von NATHANSOHN angegeben worden ist. Für die Süßwasserform wurde die eben zuvor angeführte Nährlösung mit 2 Proz. Agar versetzt. Auf daraus gegossenen Platten wurde Material von der schwefelhaltigen Haut aufgestrichen. Die Schwefelbakterie wird dann nach ein Paar Tagen durch die starke Schwefelabscheidung auf den Kolonien kenntlich, welche bei den Verunreinigungen fehlt. Für die Isolierung der Meeresform muß dem Agar noch 3 Proz. Kochsalz zugesetzt werden. Die Bakterie, *Thiobacillus thioparus*, ist ein kleines und dünnes Kurzstäbchen von 0,3 bis 0,5 μ, welches keine Sporen erzeugt und sehr beweglich ist.

Als Energiequelle, welche einige farblose Bakterien zur Zerlegung der Kohlensäure im Dunkeln benutzen können, muß, nach BEIJERINCK (3), auch die Oxydation des elementaren, festen Schwefels zu Schwefelsäure bei gleichzeitiger Denitrifikation aufgezählt werden. Die von ihm isolierte Art, welche diesen komplizierten Vorgang hervorrufen kann, ist ein sehr bewegliches und mikroskopisch sich kaum von *Th. thioparus* unterscheidendes Kurzstäbchen, *Thiobacillus denitrificans*. Die physiologische Charakteristik dieser Form bleibt aber noch etwas dunkel und unklar.

§ 70. Schlußfolgerungen. Der Kreislauf des Schwefels.

Wir sehen also, daß der Schwefel unter Einwirkung von Mikroorganismen einen vollständigen Kreislauf durchmacht: von den Eiweißkörpern

ausgehend, in welchen er eine komplizierte, bis jetzt nicht aufgeklärte Verbindung mit den Organogenen eingeht, beendigt er seinen Kreislauf als Produkt eines abgeschlossenen Oxydationsprozesses, als Schwefelsäure, welche von den Pflanzen durch Vermittelung ihrer Wurzeln aufgenommen 5 wird und in ihnen mit den anderen Elementen zusammen zum Wiederaufbau von Eiweißstoffen dient.

Trotzdem die oben beschriebenen biochemischen Prozesse so mannigfache sind, können wir sie dennoch klassifizieren, indem wir sie in zwei große Gruppen, die der Reduktions- und die der Oxydations- 10 prozesse einteilen:

I. **Reduktionsprozesse.** Hierher gehören: 1. Reduktion der schwefelhaltigen Mineralsäuren (der Schwefelsäure, der schwefligen und der unterschwefligen Säure). 2. Hydrogenisation des Schwefels (Vereinigung desselben mit Wasserstoff). 3. Vielleicht auch der unter 15 Ausscheidung von Schwefelwasserstoff verlaufende Fäulnisprozeß. Dieser kann jedoch mit gleichem Rechte auch als Spaltungsprozeß angesehen werden, wobei die im Eiweißmolekül vorgebildete Schwefelwasserstoffgruppe ausgeschieden wird.

Die beiden ersten Reduktionsprozesse verlaufen unter Wärmever- 20 brauch und müssen also die Energie dazu von irgendwo hernehmen; als Energiequelle dient ihnen die Zersetzung organischer Stoffe.

II. **Oxydationsprozesse.** Solche sind 1. die Oxydation von Schwefelwasserstoff zu Schwefelsäure und 2. die Oxydation der Thiosulfate (und Sulfide?) zu Schwefel- und Tetrathionsäure.

25 Im Gegensatz zu den Reduktionsprozessen findet bei der Oxydation der Schwefelverbindungen eine bedeutende Wärmeausscheidung statt, weshalb diese Organismen von der Anwesenheit von organischen Substanzen als Energiequellen ganz und gar nicht abhängen. Größere Mengen organischer Substanzen sind nicht nur unnötig, sondern sind 30 insbesondere für Schwefelbakterien geradezu verderblich.

Die Verbreitung der Erreger dieser so mannigfaltigen Prozesse der Schwefelumwandlung und ihre Rolle im allgemeinen Haushalte der Natur ist sicherlich eine sehr bedeutende. Sie ziehen überall und unaufhörlich den Schwefel in jenen riesigen Kreislauf der Stoffe hinein, ohne welchen 35 das Leben in seiner Mannigfaltigkeit und in seinem fortlaufenden Gange überhaupt nicht denkbar ist. Die Teilnahme dieses Elementes an dem Kreislaufe der Stoffe wird durch seine hervorragende Fähigkeit, in mannigfaltigste Kombinationen mit verschiedenen Elementen einzutreten und verschiedene Verbindungsformen zu bilden, welche große Energie- 40 mengen bei ihrer Bildung resp. Zersetzung frei machen können, sehr erleichtert. Die hierbei sich abspielenden biochemischen Prozesse können, was ihren Nutzen oder Schaden für den Menschen anbetrifft, jedesmal nur für den einzelnen gegebenen Fall beurteilt werden. Ein und derselbe Prozeß kann je nach dem Orte, an dem er sich abspielt, 45 oder je nach der Unterlage, welche der Einwirkung der Mikroben ausgesetzt wird, als nützlich oder auch als schädlich sich erweisen. So leisten z. B. die Schwefelbakterien, wenn sie den für Pflanzen schädlichen Schwefelwasserstoff zu der diesen letzteren zuträglichen Schwefelsäure oxydieren, eine im ganzen durchaus nützliche und sogar notwendige Arbeit. Findet jedoch derselbe Prozeß z. B. in Limanen oder in Schwefelquellen statt, so ist er eben unerwünscht, weil durch die Erniedrigung des Gehaltes an Schwefelwasserstoff die Heilkraft des Limanenschlammes und der Schwefelquellen herabgesetzt wird.

Literatur

zum Kapitel Der Kreislauf des Schwefels.

*Andrussow, (1) Bulletin de la Soc. Impér. de Géographie, 1892, Bd. 28, S. 370. — (2) Mémoires de l'Ac. Imp. des sciences de St. Petersbourg. 1894. Bd 1, S. 1. *Anzyferow, (1) Archives russes de Pathologie, 1900, Bd. 9, S. 251. *Arzichowsky, (1) Bull. du Jardin Imp. Botan. de St. Petersbourg. 1902. Bd. 2, S. 35. *Beijerinck, M. W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt, 1895, Bd. 1, S. 1. — (2) Ebenda, 1900, Bd. 6, S. 193. — (3) Ebenda, 1904, Bd. 11, S. 593. *Brussilowsky, (1) Wratsch, 1890, S. 717 (Russisch). — (2) Comptes rendus des séances de la Soc. Balnéol. d'Odessa, 1892, Nr. 4. *Bütschli, O., (1) Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen, Leipzig 1890. — (2) Untersuchungen über mikroskopische Schaume und das Protoplasma. Leipzig 1892. — (3) Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig 1896. *Cohn, Ferd., (1) Jahresb. der Schlesischen Gesellsch. f. vat. Kultur. 1862. S. 83. — (2) Hedwigia, 1863, S. 89. — (3) Leonards Jahrbucher für Mineralogie, 1864, S. 580. — (4) Hedwigia, 1865, S. 81. — (5) Max Schulzes Archiv f. mikr. Anatomie, 1867, Bd. 3, H. 2. — (6) Jahresb. der Schlesischen Gesellsch. f. vat. Kultur. 1874, S. 32. — (7) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1870—1875, Bd. 1, Heft 1—3. *van Delden, A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903. Bd 11, S. 81. *Engelmann, Th. W., (1) Pflügers Archiv, 1883, Bd. 30, S. 95. — (2) Bot. Ztg., 1888, Bd 46, S. 661. — (3) Pflügers Archiv, 1895, Bd. 42, S. 183. *Engler, Ad., (1) Ueber die Pilzvegetation des weißen oder toten Grundes in der Kieler Bucht. IV. Bericht der Kommission zur wissenschaftlichen Untersuchung der deutschen Meere. VII. bis IX. Jahrgang. Berlin 1884. *Etard und Olivier, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1882, Bd. 95, S. 846. *Fischer, Alfred, (1) Ber. über d. Verhandl. d. K. sächs. Ges. d. Wissensch. zu Leipzig. 1891, Bd. 1, S. 52. — (2) Jahrb. wiss. Bot., 1894, Bd. 26, S. 187. — (3) Ebenda, 1895, Bd. 27, S. 1. — (4) Untersuch. über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Jena 1897. *Fromme, A., (1) Ueber die Beziehung des metall. Eisens zu den Bakterien und über den Wert des Eisens zur Wasserreinigung. Dissert., Marburg 1891. *Goslings, N., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 13, S. 385. *Hinze, G., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1901, Bd. 19, S. 369. — (2) Ebenda, 1903, Bd 21, S. 309. *Holschewnikoff, (1) Fortschr der Medizin. 1889, Bd. 7, S. 201. *Hoppe-Seyler, F., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1886, Bd. 10, S. 401. *Jegunow, M., (1) Archives des Sciences biol., St. Pétersbourg. 1895, Bd. 3. — (2) Travaux de la Soc. des naturalistes à Varsovie, 1895 (Russisch). — (3) Annuaire géolog. et minér. de la Russie, 1896, Bd. 1. — (4) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 11. — (5) Ebenda, 1897, Bd. 3, S. 467. — (6) Ebenda, 1898, Bd 4, S. 97. — (7) Annuaire géolog. et minér. de la Russie, 1900, Bd 4. *Karplus, (1) Virchows Archiv, 1893, Bd. 131, S. 210. *Kempner, (1) Arch. f. Hyg., 1894, Bd. 21, S. 317. *Lebedinzeff, (1) Travaux de la Soc. des naturalistes à Odessa, 1891, Bd 16 (Russisch). — (2) Ebenda, 1893, Bd. 18. — (3) Chemische Unters. des Marmarameeres a. d. türkischen Schiffe „Sselanik" i. J. 1894 (Russisch). *Miyoshi, Manabu, (1) J. of the College of Science. Imp. Univ. Tokyo, 1897, Bd. 10, S. 143. *Meyer, Lothar, (1) J. f. prakt. Chem., 1864, Bd. 91, S. 1. *Migula, W., (1) Schizomycetes in: Engler und Prantl, Natürliche Pflanzenfamilien, 1895. *Miquel, (1) Bull. de la Soc. chimique. 1879, Bd. 32, I, S. 530, II, S. 127. — (2) Ann. de microgr., 1888—89, Bd. 1, S. 323. *Morren, (1) Mém. de l'Ac. de Bruxelles, 1841, S. 70. *Müller, Ch., (1) Chem.-phys. Beschreibung der Thermen von Baden in der Schweiz, 1870. *Müller, Fr., (1) Berl. klin. Wochenschrift, 1887, Nr. 23 u. 24. *Murray und Irvine, (1) Transact. of the R. Soc. of Edinburgh. 1893, Bd. 37, S. 496. *Nadson, (1) Ueber die Schwefelwasserstoffgärung im Weissowo-Salzsee und über die Beteiligung der Mikroorg. an der Bildung des schwarzen Schlammes, St. Petersburg, 1903 (Russisch). — (2) Observations sur les bactéries pourprées, St. Pétersbourg 1903 (Russisch). *Nathansohn, (1) Mitt. aus der Zoolog. Station zu Neapel. 1902, Bd. 15, H. 4. *Olivier, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1888, Bd. 106, S. 1744 u. 1806. *Perty, (1) Zur Kenntnis kleinster Lebensformen, Bern 1852. *Petri und Maassen, (1) Veröff. d. Kais. Ges.-Amt., 1892, Nr. 7. — (2) Arb. Kais. Ges.-Amt., 1893, Bd. 8, S. 318; Bd. 9, S. 490. *Philippowitsch, (1) Wratsch, 1887, Nr. 16 (Russisch). *Plauchud, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1877, Bd. 84, S. 235; 1882, Bd. 95, S. 1363. *Predtetschensky, (1) Archives russes de Pathologie, 1899, Bd 7, S. 149. *Quantin, (1) Ann. agronomiques, Bd 12, S. 80. *Ray Lankester, (1) Quarterly Journ. of micr. Sc., 1873, Bd 13, S. 408. — (2) Ebenda, 1876, Bd. 16, S. 27 u. 278. *Rey-Pailhade, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1888, Bd 106, S. 1683. — (2) Ebenda, 1888, Bd. 107, S. 43. — (3) Ebenda, 1889, Bd. 108, S. 356. *Rösing, (1) Dissertation, Rostock 1891. *Rubner, M., (1) Arch. f. Hyg., 1893, Bd. 16, S. 53 u. 78. *Saltet, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 648. *Selinsky, (1) Journ. d. russ. chem. u. phys. Ges., 1893, Bd. 25, Nr. 5. *Selinsky und Brussi-

lowsky, (1) Comptes rend. des séances de la Soc. Balnéol. d'Odessa, 1898. ***Silberberg** und **Weinberg,** (1) Travaux de la Soc. des naturalistes à Odessa, 1898, Bd. 22, S. 1. ***Silberberg,** (1) Travaux de la Soc. des naturalistes à Odessa, 1899, Bd. 23, S. 119. ***Stagnitta-Balistreri,** (1) Arch. f. Hyg., 1893, Bd. 16, S. 10. ***Stokvis,** (1) Bijdrage tot verklaring der zwavelwaterstofvorming in het Amsterdamsche grachwater (Academisch proefschrift). 1899. ***Trevisan,** Victor Graf, (1) Prospetto della Flora Euganea, Padova 1842. ***Vaucher,** (1) Histoire des Conferves d'eau douce, 1803. ***Warming,** E., (1) Om nogle ved Danmarks Kyster levende Bakterier. Kjöbenhavn, 1876. ***Werigo,** (1) Untersuchungen über die Limane und den Limanenschlamm von Odessa, 1885 (Russisch). — (2) Influence des microorg. sur la transformation de la boue des limans (Congrès internat. d'hydroth. et de climat. à Biarritz) 1886. — (3) C. rend. des séances de la Soc. Balnéol. d'Odessa, 1887 u. 1892. — (4) Mémoires du I[er] Congrès Russe de Climat., Hydol. et Baln., 1899. ***Winogradsky,** (1) Bot. Ztg., 1887, Bd. 45, S. 489. — (2) Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien, 1888, Heft 1. — (3) Ann. Pasteur, 1889, Bd. 3, Nr. 2 und 5. ***Zopf,** (1) Zur Morphologie der Spaltpflanzen, Leipzig, 1882. — (2) Beiträge zur Physiologie u. Morphologie nied. Organ., 1895, Heft 5, S. 37.

Dritter Abschnitt.

Die Zersetzung der Baustoffe der Zellwände der Pflanzen.

(*Manuskript-Einlauf: 18. Juni 1904.*)

9. Kapitel.

Die Cellulosegärung.

Von Dr. W. Omelianski.

(Mit Tafel VII.)

§ 71. Der Begriff Cellulose vom chemischen und vom physiologischen Standpunkte aus aufgefaßt.

Aufzulösen und aus dem Wege zu schaffen, was zu leben aufgehört hat, dies ist, einer hübschen Bemerkung von Pasteur zufolge, die Aufgabe der Pilze überhaupt und der Spaltpilze insbesondere. Ohne deren Tätigkeit müßte der Kreislauf der Elemente, aus denen die organische Welt sich aufbaut, bald ins Stocken geraten, und es würde die Oberfläche der Erde binnen wenigen Jahren mit den Leichen der abgestorbenen Tiere und Pflanzen sich hoch bedecken. Von den Bestandteilen dieser letzteren ist es die Cellulose, deren Schicksal nun hier betrachtet werden soll. Aus ihr sind zum großen Teile die Zellwände der Pflanzen aufgebaut, und es fragt sich nun, auf welche Weise insbesondere der Kohlenstoff dieser Substanz wieder in Freiheit gesetzt und es so verhindert wird, daß dieses Element im Laufe der Zeiten nach und nach sich in völlig nutzloser Form ansammle. Und auch hier sind es die Bakterien, welche Abhilfe schaffen, indem sie die Cellulose spalten und aus dem Wege räumen.

Bevor wir aber zur Schilderung des gegenwärtigen Standes der Frage von der Cellulosezersetzung durch Bakterien schreiten, halten wir es für geboten, einige wenige Worte der chemischen Charakteristik dieses Stoffes zu widmen. Diese wird uns dann die Möglichkeit bieten, die Frage genauer zu formulieren und einige Mißverständnisse zu beseitigen, welche sich auf diesem Gebiete eingebürgert haben und sich nun schon seit vielen Jahren hartnäckig halten.

Der Ausdruck **Cellulose** wurde noch vor kurzem und wird ab und zu auch heute noch mehr im physiologischen als im chemischen Sinne gebraucht. Man bezeichnet durch diesen Namen nicht einen chemisch einheitlichen Körper sondern eine ganze Gruppe von Körpern, aus denen die pflanzliche Zellhülle besteht.

Die Cellulosen haben, als Gruppe genommen, folgende Charakteristik: Sie sind farblose Körper, unlöslich in allen einfachen Lösungsmitteln und löslich in einer Lösung von Kupferoxyd-Ammoniak (SCHWEIZER's Reagens). Wenn auch in verschiedenem Grade, sind sie doch im ganzen durch eine bedeutende Widerstandsfähigkeit gegen Oxydation und hydrolytische Prozesse ausgezeichnet. Sie sind stickstofffrei, sind der allgemeinen empirischen Formel der Kohlenhydrate $C_nH_{2m}O_m$ entsprechend zusammengesetzt und durch die Blaufärbung bei Behandlung mit Chlorzinkjod oder mit Jod und Schwefelsäure gekennzeichnet.

Die mehr und mehr zunehmenden Fortschritte der Pflanzenchemie haben jedoch festgestellt, daß die zu dieser Gruppe gezählten Körper untereinander sowohl in der Zusammensetzung als auch in einzelnen Eigenschaften wesentliche Abweichungen aufweisen. Typische Cellulosen von verschiedener Herkunft liefern, Beobachtungen von E. SCHULZE zufolge, bei der Hydrolyse verschiedene Zuckerarten, wie Glucose, Mannose und Xylose. Das ist ein deutlicher Fingerzeig dafür, daß auch die Ausgangscellulosen von ungleichem Aufbau sind. Die zu dieser Gruppe gehörenden Stoffe unterscheiden sich voneinander außerdem nach ihrer Reaktionsfähigkeit. Während die äußersten Glieder der Reihe sich durch ungemein geringe Reaktionsfähigkeit und stark ausgeprägte Widerstandsfähigkeit gegen Oxydation und Hydrolyse (sowohl unter dem Einflusse von Säuren als auch von Alkalien) auszeichnen, sind andere Glieder dieser Reihe, welche sich von den ersteren in ihrer Elementarzusammensetzung (Oxycellulose) unterscheiden, durch ein viel geringeres Beharren gegenüber den genannten Einwirkungen gekennzeichnet, und schließlich gibt es solche (Pseudocellulose und Hemicellulose), die sich schon unter der Einwirkung verdünnter Säuren leicht zersetzen und mehr oder weniger in verdünnten Alkalien löslich sind.

Nur in den jungen Zellen höherer Pflanzen besteht die Zellwand fast ausschließlich aus Cellulose. Mit zunehmendem Alter der Zelle verändert sie sich in verschiedener Weise, indem sie entweder verholzt oder verkorkt oder cuticularisiert. Die Zellwand besteht dann nicht mehr bloß aus Cellulose, sondern es finden sich in ihr noch andere Substanzen, die man als Holzstoff (Lignin), Korksubstanz usw. bezeichnet, Körper, deren chemische Natur noch nicht näher bekannt ist. Am Aufbau der pflanzlichen Hüllen nehmen noch andere Körper teil, die nicht zur Cellulosegruppe gerechnet werden, so z. B. die Pektinstoffe.

Weil die verschiedenen Cellulosen sich in ihren chemischen Eigenschaften so wesentlich voneinander unterscheiden, sind wir vollkommen berechtigt, anzunehmen, daß auch der Widerstand, welchen diese Celluloscarten dem Angriffe von seiten der Mikroben entgegensetzen, verschieden sein kann, und daß es Zersetzungserreger gibt, welche auf die eine Art von Cellulosen einzuwirken vermögen, auf andere Arten hingegen nicht. Leider erschwert die oben erwähnte Unklarheit und Bedingtheit der chemischen Charakteristik der einzelnen Glieder dieser großen Gruppe von Stoffen die erschöpfende Lösung dieser sowohl in theoretischer als auch in praktischer Hinsicht höchst wichtigen Frage in bedeutendem Maße. Diesem Umstande haben wir es hauptsächlich

zuzuschreiben, daß auf diesem Gebiete so viele wichtige Fragen fast gar nicht berührt worden sind, und daß hier bis jetzt noch so viel zu tun übrig bleibt.

§ 72. Geschichtliche Entwicklung der Lehre von der Cellulosegärung.

Die erste Beobachtung über die natürliche Zersetzung der Cellulose wurde im Jahre 1850 von E. Mitscherlich (1) gemacht. Er bemerkte nämlich, daß bei der Naßfäule von Kartoffeln in Wasser die Zellhüllen zerstört wurden und daß die Stärke (amylum) sich am Boden des Gefäßes ansammelte. Er schrieb diese Wirkung den Vibrionen zu, welche reichlich im Substrat auftraten.

Seit den Arbeiten Pasteur's wurden dessen Ideen auch auf das Gebiet der Cellulosegärung angewandt, obwohl besondere, einigermaßen ausführliche diesbezügliche Untersuchungen innerhalb eines fast 20-jährigen Zeitraumes seit dem Erscheinen der ersten Arbeiten Pasteur's über die organisierten Fermente nicht geliefert worden sind.

Die Arbeit Trécul's (1), welche im Jahre 1865 erschien, brachte nur eine Beschreibung derjenigen Spaltpilzformen, welche dieser Forscher in Macerationen pflanzlicher Gewebe angetroffen hatte. Er bemerkte an diesen Wesen die gemeinsame Eigenschaft, durch Jod blau gefärbt zu werden, nannte sie darum *Amylobacter* und unterschied unter ihnen mehrere Arten, so den eigentlichen *Amylobacter* in Gestalt von Stäbchen, dann das spindelförmige *Clostridium* und das *Urocephalum* mit endständiger Auftreibung, eine Einteilung, welche jetzt nur noch historisches Interesse hat.

Diesen Amylobactern wurde darauf eine Reihe von Arbeiten van Tieghem's (1—5) gewidmet, welche in den Jahren 1877—1879 erschienen. Uns berühren hier nur diejenigen Befunde des Verfassers, auf Grund deren er diesem Bazillus als dessen hervorragendste Eigenschaft die Fähigkeit der Cellulosezersetzung unter Bildung von Buttersäure, Kohlensäure und Wasserstoff zuschrieb. Vor allem müssen wir aber bemerken, daß bei der Beurteilung der Arbeiten van Tieghem's von einer „Isolierung der Mikroben“ und einer „Reinzucht“ in dem Sinne, wie wir das heutzutage verstehen, überhaupt nicht die Rede sein kann. Bei dem damaligen Stande der bakteriologischen Technik war eine derartige Aufgabe im gegebenen Falle unausführbar. In der Tat beweist die Beschreibung, welche van Tieghem von diesem Bazillus gegeben hat, ohne jeden Zweifel, daß dieser Gelehrte mit einem Gemisch verschiedenartiger Bazillen aus der Gruppe der Erreger der Buttersäuregärung es zu tun gehabt hat, und daß der *Amylobacter* van Tieghem's nichts anderes ist als eine jener Sammelspecies, welche in der Wissenschaft mangels scharfer Unterscheidungs- und Trennungsverfahren vorläufig aufgestellt werden. Daher hat auch ein jeder Versuch, den *Amylobacter* van Tieghem's mit irgend einem der später isolierten und erforschten Gärerreger zu identifizieren, von vornherein keinen sicheren Boden unter sich.

Die Fähigkeit des *Amylobacter*, eine Gärung der Cellulose hervorzurufen, erschloß van Tieghem bloß aus Macerationsversuchen mit pflanzlichen Geweben, ohne sie durch Versuche an irgend einem reinen Cellulosepräparat zu bestätigen. Van Tieghem zieht aus diesen Ver-

suchen folgende allgemeine Schlüsse: Unter der Einwirkung des *Amylobacter* werden sämtliche Gewebe des Embryos, dann die Eiweißgewebe, die wachsenden Spitzen der Stengel und Wurzeln, das saftreiche Parenchym der Rinde, des Markes, der Blüten, Früchte, Knollen usw., mit 5 einem Worte, alle jungen Gewebe mit zarten Zellhüllen gelöst. Der Einwirkung des *Amylobacter* widerstehen das Parenchym älterer Gewebe, veränderte, verholzte oder verkorkte Hüllen, „jedoch auch viele Gewebe, in denen die Cellulose sich rein erhalten hat, wie die Bastfasern"; auf der letzteren Tatsache, meint van 10 Tieghem, beruhe die Praxis der Flachsröste. Den letzteren Satz möchten wir ganz besonders hervorheben, denn in diesem ist ganz bestimmt ausgedrückt, daß die Wirkung des *Amylobacter* sich auf die Fasercellulose, also gerade auf die normale oder typische Cellulose der Chemiker, nicht erstreckt. Dessenungeachtet bezeichnet van Tieghem, indem er den 15 Ausdruck „Cellulose" in dem bereits oben erwähnten physiologischen Sinne anwendet, seinen Bazillus kurzweg als das „Ferment der Cellulose", unter welchem Titel dieser fast bis heute noch in der Bakteriologie geführt wurde.

Wir wollen hier all die Mißverständnisse nicht erwähnen, welche 20 diese Benennung zur Folge hatte. Die Autoren führen den *Amylobacter* als Erreger der Cellulosegärung kurzweg und ohne jegliche Beschränkung an, von welcher Art von Cellulose auch immer die Rede sein mochte, und überall, wo die Zersetzung einer beliebigen Cellulose vor sich ging, glaubten sie die Wirkung des *Amylobacter* zu erkennen. Ob von einer 25 Zersetzung junger oder alter pflanzlicher Gewebe die Rede war, oder ob es sich, wie bei den chemischen Untersuchungen über die Cellulosegärung, um Versuche handelte, in denen Papier, also gerade diejenige Fasercellulose, auf welche nach van Tieghem der *Amylobacter* nicht einwirkt, der Zersetzung unterworfen wurde, — überall wurde der *Amylo-* 30 *bacter* verantwortlich gemacht, offenbar darum, weil man keinen anderen Mikroorganismus kannte, dem man mit größerem Rechte diese Leistung hätte zuschreiben können.

Im Jahre 1879 hat Praźmowski (1) einige Bakterien beschrieben, welche celluloselösend wirken, so *Clostridium polymyxa* und *Vibrio rugula*. 35 Alle diese Untersuchungen aber, welche sich bloß auf mikroskopische Beobachtungen stützen, besitzen nur eine schwache Beweiskraft; deren Ergebnisse können nicht als dauernd betrachtet werden.

Mehr Interesse bieten die rein **chemischen Arbeiten über die Cellulosegärung,** obgleich in diesen die Frage nach den Mikroben, 40 den Erregern des Prozesses, vollkommen unberührt bleibt. Hierher gehören die Veröffentlichungen von Popoff, Tappeiner und Hoppe-Seyler. In der aus des Letztgenannten Laboratorium hervorgegangenen Mitteilung L. Popoff's (1) bildete die Cellulose nicht den Hauptgegenstand der Forschung, sondern wurde neben der Gärung anderer 45 Substanzen bei der Impfung mit Kloakenschlamm behandelt. Die unter dem Einflusse der Bakterien sich abspielende Zersetzung des schwedischen Filtrierpapieres war mit einer Entwicklung von Gasen verbunden, welche ein Gemenge von Kohlensäure, Methan und Wasserstoff darstellten. Der Verfasser ist der Ansicht, daß die typische 50 Cellulosegärung sich durch die Entwicklung bloß von Methan und Kohlensäure kennzeichnet, und daß die Anwesenheit von Wasserstoff im Gasgemenge auf das Spiel von Nebengärungen (Buttersäuregärung) zurückzuführen sei. Die gleiche Methangärung gäben einige Körper, welche

im allgemeinen der Cellulose in chemischer Beziehung nahe stehen, wie arabisches Gummi.

Zu Anfang der achtziger Jahre erschien eine Reihe von Arbeiten von TAPPEINER (1—6) über die Zersetzung der Cellulose innerhalb des Verdauungskanales der Pflanzenfresser. Nebenbei wurden vom Verfasser auch Fragen berührt, die sich auf die Cellulosegärung überhaupt beziehen. Zu den Versuchen dienten Papier und Watte in Nährlösungen, die an stickstoffhaltigen Substanzen (Fleischextrakt, Asparagin u. dgl.) reich waren. Die Impfung erfolgte vermittelst eines kleinen Stückchens des ersten Magens von Wiederkäuern. Die Gärung verlief äußerst energisch und war von Säureentwicklung (Essigsäure, Isobuttersäure) und reichlicher Gasbildung begleitet. Je nach den Versuchsbedingungen entwickelte sich bald die „Wasserstoffgärung", bald die „Methangärung" der Cellulose. Bisweilen verliefen beide Gärungen gleichzeitig in ein und demselben Kolben. In solchen Fällen pflegte die Methangärung die Oberhand zu gewinnen.

Die ausführlichste Untersuchung auf dem Gebiete der uns interessierenden Frage ist die im Jahre 1886 veröffentlichte Arbeit HOPPE-SEYLER's (1—2) über die Methangärung der Cellulose. Der Hauptversuch HOPPE-SEYLER's bestand in folgendem: Am 2. Dezember 1881 brachte er in einen 1101 ccm fassenden Kolben 25,773 g reines Filtrierpapier, gegen 700 ccm Wasser und behufs Impfung eine kleine Menge Schlamm, der an der Ausmündung eines der städtischen Abwässerkanäle Straßburgs in die Jll entnommen worden war. Der Kolben wurde luftdicht durch einen Kautschukstopfen verschlossen, in welchen ein Ableitungsrohr eingesetzt war, das mit seinem anderen Ende in Quecksilber eintauchte. Er war zum Schutze gegen Lichtwirkung mit einer doppelten Schicht von schwarzem Papier umhüllt und wurde in diesem Zustande 4 Jahre lang bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Zu Anfang ging die Gasentwicklung äußerst energisch vor sich; gegen Ende des Jahres 1883 begann sie schwächer zu werden und war in der zweiten Hälfte des Jahres 1885 kaum mehr wahrnehmbar, weshalb der Versuch am 6. Dez. 1885 abgebrochen wurde. Das gesamte ausgeschiedene Gas wurde gesammelt und der Analyse unterworfen. Es wurden 95 solcher Analysen ausgeführt und im ganzen 3281 ccm Kohlensäure und 2571 ccm Methan erhalten. Als HOPPE-SEYLER am Schlusse des Versuches eine chemische Analyse des Kolbeninhaltes vornahm, konnte er neben Ueberbleibseln von unzersetzter Cellulose keinerlei Zersetzungsprodukte finden. Aus dieser Tatsache schließt er, daß die Angaben VAN TIEGHEM's und TAPPEINER's über die Entwicklung organischer Säuren bei der Cellulosegärung unrichtig seien, obwohl er die Möglichkeit einer Bildung solcher Säuren als Zwischenprodukte zugibt. Der wahrscheinliche Mechanismus des Zerfalles der Cellulose bei der Methangärung ist nach HOPPE-SEYLER der folgende:

1. Phase. Hydratation der Cellulose und Bildung einer Hexose:

$$C_6H_{10}O_5 + H_2O = C_6H_{12}O_6.$$

2. Phase. Zersetzung dieses Kohlenhydrates in gleiche Teile Methan und Kohlensäure, vielleicht unter vorheriger Bildung gewisser Zwischenprodukte:

$$C_6H_{12}O_6 = 3CO_2 + 3CH_4.$$

An anderer Stelle dieses Kapitels (S. 260) werden wir diese Befunde HOPPE-SEYLER's kritisch zu beleuchten suchen; hier hingegen soll noch der von diesem Chemiker gegebenen Beschreibung des Erregers der

Methangärung der Cellulose kurz gedacht werden. Weil HOPPE-SEYLER kein Bakteriologe von Fach war, hat er sich in betreff dieser wichtigen Frage auf kurze Bemerkungen beschränkt. So sagt er an einer Stelle in seiner Arbeit, daß die Ausscheidung von Kohlensäure und Methan nur
5 dann in bemerkbarer Weise vor sich ging, wenn in der Flüssigkeit lebende Bakterien von bestimmter Form anwesend waren, und daß diese Bakterien sich durch nichts vom *Amylobacter* VAN TIEGHEM's unterschieden. An einer anderen Stelle (S. 417) schreibt er: „In der Flüssigkeit und viel reichlicher im Bodensatz fanden sich kürzere Stäbchen
10 und Bakterien, die sämtlich viel schwächer konturiert waren, als die in der Haut gefundenen, zum Teil mit Sporen. Daneben im Bodensatz zahlreiche Kügelchen und Körnchen. Anfangs waren alle Bakterien und Körnchen regungslos, nach wenigen Minuten zeigten schwach konturierte Bakterien, sämtlich von Form, Größe und Aussehen des *Amylobacter*, mit
15 und ohne Sporen, Bewegung, die allmählich lebhafter wurde." Eine derartige Beschreibung kann allerdings niemanden überzeugen; sie macht auch, wie es scheint, keinen Anspruch darauf. HOPPE-SEYLER berührt diese Fragen nur ganz kurz und beiläufig, indem er sich infolge augenscheinlichen Mißverständnisses auf die früheren Angaben VAN TIEGHEM's
20 über die Rolle des *Amylobacter* bei der Zersetzung der Cellulose verläßt, obwohl VAN TIEGHEM selbst, wie schon erwähnt, dem *Amylobacter* die Fähigkeit, die Cellulose der Bastfasern und der Baumwolle zu zerstören, abgesprochen hatte.

Im Jahre 1890 beobachtete A. H. VAN SENUS (1) unter dem Mikro-
25 skop die Veränderungen, welche in der Watte und in Schnitten pflanzlicher Gewebe unter dem Einflusse von Mikroben aus Flußschlamm eintreten. Die Fasern der in Fleischbrühe gebrachten Watte bedeckten sich mit Schleim, welcher Bakterien einschloß, und lösten sich allmählich in ihm auf. An Schnitten von Kartoffeln, Bohnen und anderen Pflanzen
30 wurde Zerstörung der Zellhüllen wahrgenommen. Das Zustandekommen der Zersetzung der Cellulose schreibt der Verfasser dem gleichzeitigen Einwirken zweier Mikroben zu, des *Amylobacter* und eines anderen, sehr kleinen Bazillus, welcher aus dem Kaninchendarm isoliert werden konnte. Einzeln für sich wirkte keine dieser beiden Arten von Mikroben auf die
35 Cellulose ein. Nach der Meinung VAN SENUS' existiert eine Methangärung der Cellulose als selbständiger Prozeß überhaupt nicht. In allen Fällen werde Cellulose unter Bildung von Wasserstoff, Kohlensäure und Essigsäure zersetzt. Der Wasserstoff wirke auf die Essigsäure ein und reduziere sie zu Aldehyd und Alkohol und schließlich zu einem Kohlen-
40 wasserstoffe, so daß die Essigsäure in dürftigen Nährböden, in denen keine anderen leicht reduzierbaren Stoffe vorhanden sind, gänzlich verschwinden könne. Deshalb, meint er, habe HOPPE-SEYLER in seinen Zuchten auch nur Kohlensäure und Methan vorgefunden. Wir können uns jedoch nicht verhehlen, daß die Angaben von VAN SENUS an großer
45 Unbestimmtheit leiden, und daß seine Schlußfolgerung sowohl bezüglich der Chemie als auch bezüglich der Bakteriologie des Prozesses wenig überzeugend erscheinen.

Ein besonderer Platz in der Lehre von der Cellulosegärung kommt jenen Arbeiten zu, welche sich mit der durch Mikroben verursachten
50 **Zersetzung des Mistes** (s. das 16. Kapitel) beschäftigen, dessen Hauptbestandteil Cellulose ist. Im Jahre 1856 hatte REISET (1) zuerst auf die Tatsache aufmerksam gemacht, daß bei der Mistzersetzung unter anaeroben Bedingungen Methan entbunden wird. Dieser Befund wurde

später durch DEHÉRAIN (1) bestätigt, welcher die chemische Zusammensetzung des Gasgemisches bestimmte, das aus verschiedenen Schichten eines Misthaufens ausgeschieden wurde. Das Ergebnis dieser Ermittlungen war folgendes:

	Obere Schicht des Misthaufens	Mittlere Schicht des Misthaufens	Untere Schicht des Misthaufens
CO_2	21,6 Vol.-Proz.	31,0 Vol.-Proz.	37,1 Vol.-Proz.
O_2	0,0 „	0,0 „	0,0 „
CH_4	0,0 „	33,3 „	58,0 „
N_2	78,4 „	35,5 „	4,9 „

In der der Luftwirkung mehr ausgesetzten oberen Schicht des Misthaufens findet also eine vollständige Verbrennung der organischen Substanz ohne Entwicklung von brennbaren Gasen statt, in der mittleren und noch mehr in der unteren Schicht aber spielen sich Gärungsvorgänge mit reichlicher Methan- (zuweilen auch Wasserstoff-)Entwicklung ab. Ganz ähnliche Vorgänge beobachtete auch GAYON (1). Dieser studierte die Zersetzung von Mist, welcher entweder in einem eisernen Käfig mit allseits freiem Luftzutritt, oder aber in einem verschlossenen Holzkasten ohne Luftzutritt sich befand. Methangärung fand nur in dem zweiten Falle, in welchem die Zersetzung also unter anaeroben Bedingungen vor sich ging, statt.

Im Jahre 1889 veröffentlichte SCHLOESING (1) die Ergebnisse seiner quantitativen Untersuchungen über Mistgärung mit genauer Berechnung der Mengen sämtlicher Endprodukte. Im Verlaufe von zwei Monaten wurden sämtliche ausgeschiedenen Gase, welche aus einem Gemisch von Kohlensäure und Methan bestanden, gesammelt und analysiert. Der ausgegorene Mist verändert sich in seinem Aussehen durchaus nicht. Durch vergleichende Bestimmungen des Gehaltes verschiedener Elemente in dem zum Versuch verwendeten Miste sowie in dem nach der Gärung zurückgebliebenen Ueberrest und in den Gärprodukten kam SCHLOESING zu dem Schlusse, daß an der Mistzersetzung, ebenso wie bei der Alkoholgärung, die Elemente des Wassers teilnehmen. Im Jahre 1892 war HÉBERT (1) bemüht, diejenigen Strohbestandteile, welche bei der Gärung unter Einwirkung der Beimpfung mit Mist zersetzt werden, genauer zu bestimmen. Die Zucht wurde in einem Kolben angelegt, welcher fein zerkleinertes Stroh enthielt, das mit einer 5-proz. Lösung von kohlensaurem Kali oder Ammoniak übergossen wurde. Im Verlaufe von drei Monaten wurde Gärung mit Ausscheidung von Methan und Kohlensäure beobachtet, wobei das Stroh ungefähr die Hälfte seines Gewichtes einbüßte. Den wesentlichsten Gewichtsverlust erlitten Cellulose, Holzgummi und Vasculose (der Hauptbestandteil der incrustierenden Substanz nach FRÉMY), wie nachfolgende Zahlen dartun:

Gehalt an:	Vor der Gärung:	Nach der Gärung:	Gewichtsverlust:
Cellulose	14,12 Proz.	6,18 Proz.	56,2 Proz.
Holzgummi	10,00 „	4,67 „	53,3 „
Vasculose	14,01 „	11,75 „	16,1 „

Wir sehen also, daß sich mit der Frage der Cellulosegärung unter Einwirkung von Mikroorganismen nicht wenige Forscher beschäftigt haben, und wenn dennoch der erreichte Erfolg ein sehr magerer ist, so hat das seine guten Gründe. Vor allem muß hervorgehoben werden, daß die ersten Arbeiten auf diesem Gebiete in eine Zeit fallen, in welcher die bakteriologische Technik noch auf einer sehr niedrigen Stufe stand

und von einer Isolierung der Mikroben gar nicht die Rede sein konnte. Ferner gehören mehrere und zwar die größeren Arbeiten auf diesem Gebiete nicht Bakteriologen an, so daß also der bakteriologische Teil der Frage bei der Untersuchung unberücksichtigt blieb (Hoppe-Seyler).
5 Endlich schloß bei mehreren Forschern die Versuchsanstellung irgend welche bestimmte Ergebnisse über die Erreger der Cellulosegärung ganz aus. Hierher gehören die Untersuchungen über Zersetzung des Mistes, dessen Zusammensetzung eine so mannigfaltige und unbeständige und dessen Bakterienflora eine so bunte ist, daß die Schwierigkeit der
10 Ziehung irgendwelcher Schlußfolgerungen auf Grund des Studiums derartiger Zuchten keinem Zweifel unterliegt. Nichtsdestoweniger berichtete Gayon im Jahre 1883 bis 1884, daß es ihm gelungen sei, einen kleinen anaeroben Bazillus in Reinzucht zu gewinnen, welcher in Flüssigkeiten, welche Stroh oder Papier enthielten, Methangärung hervorrief.
15 Die Angaben Gayon's geben jedoch zu Zweifel Anlaß und sind so lückenhaft, daß sie von späteren Untersuchern nicht nachgeprüft werden konnten.

§ 73. Die Wasserstoffgärung der Cellulose.

Vom Jahre 1895 an hat W. Omelianski (1—3) der Frage über die Cellulosezersetzung durch Bakterien eine Reihe von Arbeiten gewidmet,
20 in welchen er das bis dahin vorliegende Tatsachen-Material sowohl in betreff der Bakteriologie als auch in betreff der Chemie des Prozesses einer gründlichen Durchsicht unterzogen hat. Er hat seine Untersuchung auf die Erforschung der Erreger der Vergärung einer typischen Cellulose beschränkt, deren Reingewinnung und Unterscheidung von
25 anderen Cellulosearten keine Schwierigkeiten bietet. Mit dem Namen einer typischen oder normalen Cellulose bezeichnet die Chemie, wie bekannt, jene Cellulose, aus welcher die Baumwolle und die Fasern des Flachses und einiger anderer Pflanzen bestehen, und die im schwedischen Filtrierpapier als Reinpräparat verfügbar ist. Der Umstand, daß gerade
30 die normale Cellulose ein vollkommen unlöslicher Körper ist, welcher an Unangreifbarkeit die Mehrzahl der Kohlenstoffverbindungen übertrifft und weder der Oxydation noch der Hydrolyse selbst durch kräftige chemische Mittel zugänglich ist, muß dazu veranlassen, dem Lebewesen, das auf diesen Körper einzuwirken imstande ist, ein besonderes Interesse
35 entgegenzubringen.

Als Ausgangsmaterial für die Impfungen diente in diesen Versuchen frischer Pferdemist und Flußschlamm aus der Newa. Letzterer wurde in einem geräumigen gläsernen Behälter bei Zimmertemperatur aufbewahrt und entwickelte ununterbrochen reichliche Mengen eines brenn-
40 baren Gasgemisches, welches hauptsächlich aus Methan, Kohlensäure und Wasserstoff bestand.

Die Aussaaten wurden gewöhnlich in langhalsigen Kolben jener Art vorgenommen, welche im 23. Kapitel des I. Bandes beschrieben und abgebildet worden ist. Sie wurden mit reinem Filtrierpapier und
45 Kreide beschickt und bis an den Pfropfen mit einer Nährlösung von nachfolgend angegebener Zusammensetzung gefüllt: Phosphorsaures Kali 1 g, schwefels. Magnesia 0,5 g, schwefels. oder phosphors. Ammoniak 1 g, Kochsalz eine Spur, destill. Wasser 1 Liter.

Der Lösung wurde stets auch Kreide hinzugesetzt, da bei Abwesen-
50 heit der letzteren die Gärung überhaupt nicht eintrat oder, wenn sie

auch anfing, sofort wieder erlosch. Bisweilen wurden statt des Ammonsalzes 0,5 Proz. Asparagin oder 0,1 Proz. Pepton hinzugetan. In seltenen Fällen wurde eine 0,5-proz. wässerige Fleischextraktlösung oder eine Mistabkochung zu dem Versuch genommen. In einzelnen Fällen wurde das gewöhnliche Filtrierpapier durch Pergamentpapier, chemisch 5 ausgefällte Cellulose, aus Kohl und Schnittkohl dargestellte Cellulose, Hollundermark u. dgl. ersetzt. Die Versuche wurden bei 34—35° ausgeführt, einer Temperatur, welche ungefähr dem Optimum für diese Gärung entspricht.

Die der Gärung der Cellulose vorausgehende **Inkubationszeit** ist 10 im allgemeinen eine sehr lange und schwankt innerhalb ziemlich weiter Grenzen. In keinem Falle beträgt sie weniger als eine Woche. Hierzu ist noch zu bemerken, daß man gut tut, nicht zu spärlich zu beimpfen. Gewöhnlich wurde in den zu beimpfenden Kolben ein kleines Stück von zersetztem Papier aus einer älteren Zucht eingebracht. Schon vor dem 15 eigentlichen Beginn der Gärung wird in der Flüssigkeit eine leichte Trübung bemerkbar; zu gleicher Zeit werden die Papierstreifen, welche bisher locker auf dem Boden des Kolbens lagen, welk und legen sich dichter zusammen. Es erscheinen auf ihnen Flecke; das sind die Stellen, an denen das Papier mit der Zeit bis zur Durchlöcherung 20 zerfressen werden wird. In manchen Fällen bietet diese Erscheinung ein interessantes Bild dar. Auch ist die Art dieser Zerstörung nicht immer die gleiche; das eine Mal entstehen auf dem Papier mehr oder weniger große, fern voneinander liegende Löcher, ein anderes Mal erscheint dasselbe dicht von äußerst feinen, bisweilen kaum sichtbaren 25 Oeffnungen durchsetzt. Diese Eigentümlichkeiten treten sehr deutlich auf dem beigegebenen Bilde (*Fig. 37*) hervor. In anderen Fällen ist

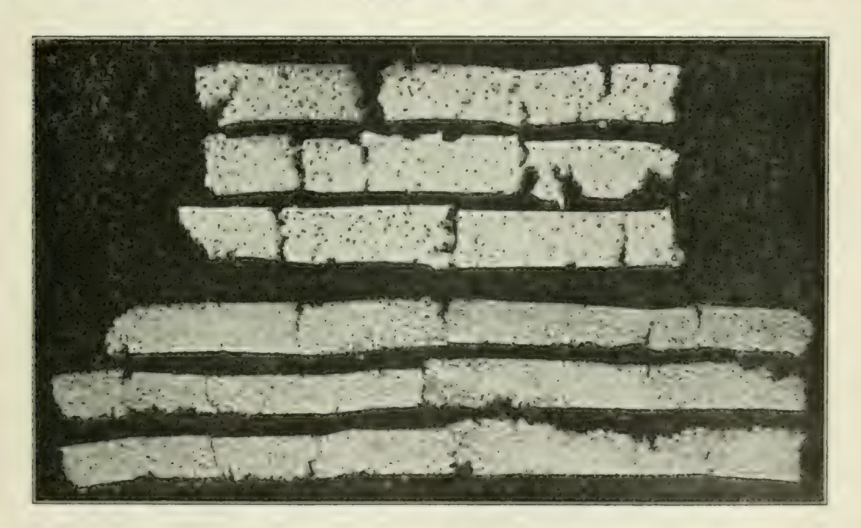


Fig. 37. Streifen von Filtrierpapier, welche durch Cellulosegärung verschiedenartig durchlöchert worden sind. — Nat. Größe. Nach OMELIANSKI.

diese Erscheinung überhaupt nicht so scharf ausgeprägt; das Papier verwelkt gleichsam plötzlich in seiner ganzen Masse auf dem Boden des Kolbens. Nach Beendigung der Gärung bleibt gewöhnlich ein Rest 30 des verwendeten Papieres halbverfault und im Aussehen gänzlich ver-

ändert zurück. Es läßt sich nun nicht mehr mit einem Haken ergreifen und aus dem Kolben herausziehen; bei der leisesten Berührung zerfällt es. Die anfänglich weiße Farbe des Papieres geht oft in eine gelblich-bräunliche über, was man besonders gut in älteren Zuchten bemerken kann. Die gleiche Farbe nimmt teilweise auch die Flüssigkeit an. Zu diesen sichtbaren Veränderungen gesellt sich noch ein Geruch nach faulem Käse. In jenen Fällen, in denen statt des Papieres gefällte Cellulose zur Anwendung kommt, ist die Zersetzung nicht von so ausgeprägten sichtbaren Veränderungen begleitet, geht aber dafür schneller von statten. Auf der Höhe des Prozesses steigen die Flocken der gefällten Cellulose, häufig von den Gasbläschen mitgerissen, an die Oberfläche der Flüssigkeit. Der Ueberschuß der den Zuchten zugesetzten Kreide klebt zu Krusten zusammen.

Diese eben beschriebene Versuchsanstellung ist, zufolge Omelianski, zur Erregung sowohl von Methangärung als auch von Wasserstoffgärung der Cellulose tauglich. Das Auftreten der einen oder der anderen Art von Gärung aber läßt sich durch äußere Bedingungen, nämlich durch **Erhitzen der Aussaat** bestimmen. Nimmt man die Abimpfungen ohne vorhergegangenes Erwärmen vor, so setzt sich in der Regel in den folgenden Zuchten die Methangärung fest. Wird dagegen bei einer der ersten Abimpfungen (am besten schon bei der ersten) die Zucht vorher 15 Minuten lang auf 75° erhitzt, so sind hierdurch Bedingungen zur Entwicklung der Wasserstoffgärung geschaffen.

Um endgültig die Frage zu entscheiden, inwieweit das Erhitzen der Aussaat als zuverlässiges Mittel gelten kann, um die beiden Gärungen voneinander zu trennen, schlug Omelianski (2) den Weg des Versuches ein, indem er künstlich gemischte Zuchten von Wasserstoff- und von Methangärung der Cellulose durch dieses Verfahren zu trennen sich vorsetzte. Als Ausgangszucht diente dazu ein Kolben, welcher reichlich mit der Mischzucht von beiden Gärungen beimpft worden war. Von diesem ausgehend, hat Omelianski eine ganze Reihe von Abimpfungen ohne Erhitzung weitergeführt und auf diese Weise reine Methangärung erhalten. Von jeder Zucht dieser ursprünglichen Reihe wurden weitere Abimpfungen aber mit Erhitzung (auf 75° im Laufe von 15 Minuten) vorgenommen, um die Wasserstoffgärung der Cellulose hervorzurufen und auf diese Weise zu bestimmen, bis zu welcher Generation dieser eigentümliche Uebergang zu beobachten ist. Dieser Versuch zeigte, daß die ersten zwei oder drei Ueberimpfungen sich durch dauerhaften Uebergang von der Methangärung zur Wasserstoffgärung als Folge der Erhitzung des Impfmaterials kennzeichnen. Die folgenden vier bis neun Ueberimpfungen geben bei der Erhitzung der Aussaat schon ein schwankendes Resultat, d. h. man erzielt dabei entweder Methan- oder aber Wasserstoffgärung. Bei den letzten Ueberimpfungen endlich hat die Methangärung festen Fuß gefaßt, und die Erhitzung des Impfmaterials ist schon nicht mehr imstande, einen Umschlag der Methan- in Wasserstoffgärung zu bewirken. Das Ergebnis dieses Versuches stellte außer Zweifel, daß man an dem Erhitzen der Aussaat ein vollkommen zuverlässiges Hilfsmittel hat, um diese beiden Gärungen voneinander zu trennen und auseinanderzuhalten.

Man kann dieses eigentümliche Verhalten durch die verschieden lange Dauer der Inkubationszeit der einen und der anderen Gärung erklären. Impft man mit einem Material, welches Sporen der Mikroben beider Gärungen enthält, sei es Schlamm, Mist oder ein künstliches Ge-

menge, so entsteht zunächst die Methangärung, deren Inkubationszeit kürzer ist, als die der Wasserstoffgärung. Erhitzen wir nun eine solche einseitig entwickelte Zucht, so töten wir dadurch die ausgekeimten oder auskeimenden Sporen des Methanbazillus ab, die noch ruhenden Sporen des Wasserstoffbazillus aber werden ungeschädigt und entwicklungsfähig bleiben. Wenn wir dieses Verfahren, die Abimpfung unter Erhitzung, der Sicherheit halber mehrmals wiederholen, so müssen wir dadurch die Keime des Methanbazillus vollständig vernichten, und unsere Zuchten werden dann nur die Wasserstoffgärung liefern. Ebenso ist es klar, daß wir, wenn wir das gemischte Material im Stadium der reinen Methangärung abimpfen, in welchem die Sporen des Wasserstoffbazillus sich noch im Ruhezustande befinden, nach einer Reihe von Abimpfungen die Keime des letzteren gänzlich ausschließen werden, und daß das Erhitzen des Impfmateriales dann nicht mehr jene charakteristische Verwandlung der Methangärung in Wasserstoffgärung bewirken wird. Dasselbe Verfahren des Erhitzens kann man also auch zur Prüfung der Reinheit des Methanbazillus anwenden, wenn die Frage zu entscheiden ist, ob das Material frei von einer Beimengung von Sporen des Wasserstoffbazillus ist.

Bei der mikroskopischen Untersuchung von Präparaten aus der 5. 6. Generation der Wasserstoffgärungszuchten kann man sehr deutlich beobachten, daß die Papierfasern an ihrer Oberfläche mit einem äußerst dünnen Bazillus dicht besetzt sind. Dessen **morphologische Merkmale** sind die folgenden. Im Jugendzustande haben die Zellen das Aussehen äußerst dünner, gewöhnlich gerader Stäbchen von 0,5 μ Dicke und 4—8 μ Länge. Mit der weiteren Entwicklung werden sie länger und erreichen 10—15 μ, ohne jedoch auch in der Breitenrichtung zuzunehmen. Sie sind niemals miteinander zu Ketten vereinigt. Bisweilen sind sie leicht gekrümmt, ab und zu sogar unregelmäßig spiralförmig gewunden, besonders in den Zuchten mit chemisch gefällter Cellulose. Später dann erscheint an dem einen Ende des Stäbchens eine kaum wahrnehmbare Auftreibung, welche sich allmählich vergrößert und zuerst eine längliche, später eine runde Gestalt annimmt (Stadium des „Trommelschlägels"). In dieser Auftreibung entwickelt sich eine vollkommen runde Spore, welche den ganzen Raum ausfüllt und im reifen Zustande 1,5 μ im Durchmesser nicht übersteigt. Nach einiger Zeit wird die fertig entwickelte Spore durch Zerfall der Mutterzelle frei. Alte Zuchten, in denen die Zerstörung des Papieres schon weit vorgeschritten ist, zeigen fast nur Sporen mit sehr geringer Beimischung von vegetativen Formen, welch letztere sich gewöhnlich im Zustande der Sporenbildung befinden.

Der Bazillus läßt sich recht gut mit den gebräuchlichen Anilinfarben (Gentiana, Fuchsin u. dgl.) färben. Sehr charakteristische Bilder erhält man bei doppelter Färbung der sporenhaltigen Zuchten mit Karbolfuchsin und Methylenblau. In keinem einzigen seiner Entwicklungsstadien wird dieser Bazillus durch Jod blau gefärbt; mithin fehlt hier das Kennmerkmal des *Amylobacter*.

Auf der *Taf. VII* sieht man in den *Fig. 2, 4, 6* den Bazillus in den am meisten charakteristischen Stufen seiner Entwicklung. Die *Fig. 2* zeigt ihn im vegetativen Stadium. Um die Fasern des Papieres herum sind die Stäbchen in großer Anzahl angesammelt. Hie und da wird auch ein Trommelschlägelstäbchen angetroffen. Auf *Fig. 4* ist das Trommelschlägelstadium abgebildet. Die Bazillen hatten von allen

Seiten an einer bereits fast gänzlich zerstörten Faser der Cellulose. *Fig. 6* zeigt die Sporen des Bazillus.

Wie schon diese Abbildungen dartun, kann eine mikroskopisch reine Zucht des Bazillus durch wiederholte Aussaaten unter streng elektiven Bedingungen leicht erhalten werden, besonders dann, wenn man die Zucht, aus welcher abgeimpft werden soll, durch Erhitzen (bis 90° durch 20 Min.) von sporenlosen Beimengungen befreit. Ungeachtet dieser fast vollkommenen Reinheit des Impfmaterials, waren aber beinahe alle Versuche, eine wirkliche Reinzucht des Cellulosebazillus zu erhalten, erfolglos, weil die Bemühungen, diesen Bazillus auf festem Nährboden (Celluloscheiben, Kartoffeln, Möhren, Schnittkohl, rote Rüben, Kohl usw.) zur Entwicklung zu bringen, mißlangen. Nur in vereinzelten Fällen hat Omelianski auf Kartoffelscheiben außerordentlich kleine Kolonien des spezifischen Mikroorganismus in Gestalt von gelben, ziemlich flüssigen, halb durchsichtigen Tröpfchen auffinden können. Jedoch deutete das Aussehen der diesen Kolonien entnommenen Cellulosebazillen auf eine unverkennbare Entartung (Involutionsformen, bakterieller Detritus, Sporenlosigkeit usw.) hin. Ueberimpfungen von diesen Kolonien auf flüssige Nährböden blieben fast durchwegs erfolglos.

Die Unmöglichkeit, hier einen vollen Erfolg zu erzielen, behinderte leider die Lösung der Frage, wie sich der die Cellulose zersetzende Bazillus gegenüber den löslichen Kohlenhydraten (Zuckerarten), sowie auch verschiedenen stickstoffhaltigen Substanzen von hohem Nährwerte, wie Pepton, Asparagin, Bouillon usw., verhält, eine Frage, welche vom physiologischen Standpunkte aus von hohem Interesse ist.

Zur Veranschaulichung des Verlaufes der Cellulosevergärung mögen die Ergebnisse des von Omelianski ausgeführten **quantitativ-analytischen Versuches** dienen, in welchem sämtliche Zerfallsprodukte der angewandten Cellulosemenge bestimmt wurden. Alle im folgenden angeführten Befunde beziehen sich auf eine Gärung in unreinen Zuchten, in welchen jedoch der Gehalt an spezifischen Mikroben so groß und die Menge der Verunreinigungen so verschwindend klein war, daß diese Befunde ohne Zweifel zur Charakterisierung der typischen Wasserstoffgärung der Cellulose dienen können. Ein Kolben von 300 ccm Inhalt wurde mit Mineralsalzlösung, Papier und Kreide befüllt und mit einem Kautschukstopfen verschlossen, durch welchen ein Gasabzugsrohr bis auf den Boden des Gefäßes durchgeführt war; nach erfolgter Impfung wurde der Kolben in einer Quecksilberwanne umgestülpt und bei 35° C aufbewahrt. Zum Versuche waren 3,7099 g Papier mit 6,5 Proz. Feuchtigkeit oder 3,4743 g trockenes Papier, sowie 5,7698 g reine, etwas durchgeglühte Kreide genommen worden. Der Versuch wurde am 7. Oktober 1895 begonnen und am 28. November 1896 beendet, dauerte also 13 Monate. Diese ganze Zeit hindurch wurde das durch die Gärung ausgeschiedene Gas in Mengen von je 15—40 ccm gesammelt, welche man jeweils auf das Verhältnis seiner zwei Bestandteile, nämlich Kohlensäure und Wasserstoff, quantitativ prüfte. Die pro Stunde ausgeschiedene Menge von Gas hatte ungefähr eine Woche nach Versuchsbeginn den Anfangswert von ca. 0,1 ccm, erreichte nach Ablauf von insgesamt 20 Tagen ihren Höchstwert von 0,8 ccm und sank von da an in den darauffolgenden vier Wochen allmählich wieder auf weniger als 0,1 ccm hinab. Der Prozentgehalt an Wasserstoff darin war zu Anfang am höchsten (über 80 Proz.), fiel dann in den nächsten drei Wochen rasch bis zu ca. 4,5 Proz., um von da an wieder bis zu



Erklärung der Abbildungen.

Linke Hälfte:

Der Erreger der
Methan-Gärung
der Cellulose.

Rechte Hälfte:

Der Erreger der
Wasserstoff-Gärung
der Cellulose.

Fig. 1. Junge Stäbchen in vegetativer Entwicklung begriffen.

Fig. 2. Junge Stäbchen neben einigen sporenbildenden.

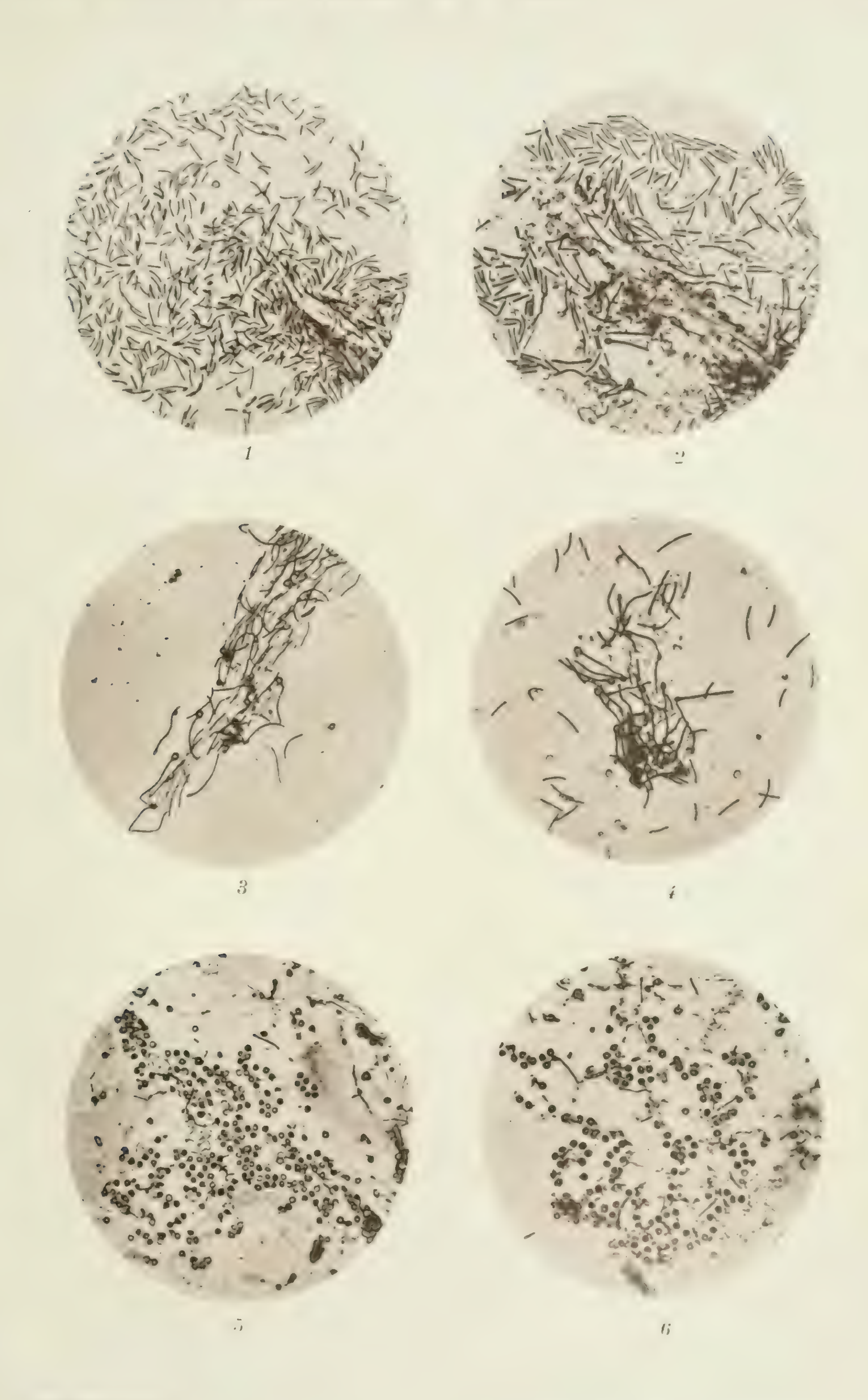
Fig. 3. Sporenbildung; Trommelschlägel-Gestalten.

Fig. 4. Sporenbildung; Trommelschlägel-Gestalten.

Fig. 5. Reife Sporen.

Fig. 6. Reife Sporen.

Vergrößerung 1000.
Genauere Beschreibung im Text.



Omelianski phot. Crayondruck von J. B. Obernetter, München

Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.



ca. 32 Proz. aufzusteigen, sank dann wieder zurück und betrug zu Ende ca. 20 Proz. Insgesamt wurden 810 ccm Gasgemisch erhalten, bestehend aus 154,3 ccm (= 0,0138 g) Wasserstoff und 695,2 ccm (= 1,3034 g) Kohlensäure. In der Flüssigkeit waren 0,3688 g Kohlensäure gelöst. Demnach waren an Kohlensäure im ganzen 1,6722 g ausgeschieden worden. Von letzterer sind, nach Abzug der ermittelten Menge der aus dem Kalke durch die entstandenen organischen Säuren abgespaltenen Kohlensäure, 0,9722 g in die Gleichung der Cellulosegärung einzuführen. Die Zusammensetzung der entstandenen flüchtigen organischen Säuren, nach dem Verfahren von Duclaux ermittelt, wird durch das Verhältnis von 1 Molekül Buttersäure zu 1,7 Molekülen Essigsäure ausgedrückt, nebst einer kleinen Beimengung einer höheren Fettsäure, wahrscheinlich Valeriansäure. Das Gesamtgewicht dieser Säuren wurde auf Grund der Gesamtacidität zu 2,2402 g berechnet. Der am Grunde der Flüssigkeit verbliebene Absatz, welcher aus Papierflocken und Bakteriensporen bestand, zeigte nach dem Waschen mit Salzsäure ein Trockengewicht von 0,1272 g.

Die **Bilanz der Wasserstoffgärung** der Cellulose stellt sich auf Grund dieser Befunde nun wie folgt:

Gärmaterial: Cellulose.		Gärprodukte:	
Zum Versuch verwendet	3,4743 g	Fettsäuren	2,2402 g
Unzersetzt geblieben	0,1272 „	Kohlensäure	0,9722 „
Durch d. Gärung verschwunden	3,3471 g	Wasserstoff	0,0138 „
		Zusammen	3,2262 g

Zieht man in Betracht, daß manche Gärprodukte (wie Valeriansäure, höherer Alkohol, riechende Substanzen, gelöster Wasserstoff) überhaupt nicht bestimmt und in Rechnung gezogen wurden, so wird man den ausgewiesenen Verlust von 0,1209 g wohl als zulässigen Analysenfehler gelten lassen dürfen.

§ 74. Die Methangärung der Cellulose.

Wie bereits im vorhergehenden Paragraphen bemerkt worden ist, muß man zur Erzielung einer Methangärung der Cellulose wie folgt verfahren: Ein Kolben, welcher Filtrierpapier, Kreide und eine Nährlösung, am besten eine mineralische (s. S. 252) enthält, wird mit Flußschlamm oder mit frischem Pferdemist beimpft. Die Zucht wird unter anaeroben Bedingungen bei 35—37° C. gehalten. Die Methangärung kommt ziemlich leicht zustande und hält sich eine Reihe von Generationen hindurch. Den obigen Angaben gemäß ist eine Erwärmung der ersten Abimpfungen zu vermeiden. Die genannten Bedingungen erwiesen sich als genügend elektiv, und der spezifische Bazillus kommt leicht zur Vorherrschaft, besonders dann, wenn man für die Zuchten mineralische Nährlösung verwendet.

Betrachtet man die aus dem ersten Kolben angefertigten Präparate, so kann man sofort bemerken, daß die Fasern des Papieres mit sehr feinen Bazillen besät sind, welche an ihrem Ende eine runde Spore entwickeln und in betreff ihrer **morphologischen Merkmale** im allgemeinen dem oben beschriebenen Bazillus der Wasserstoffgärung der Cellulose ungemein ähnlich sind. Dieser Bazillus ist jedoch noch dünner und zarter konturiert als der oben beschriebene. Mit den weiteren Ab-

impfungen wird die Zucht noch merklich reiner, die Erhitzung tötet alle sporenlosen, fremden Arten, und schließlich werden Zuchten erhalten, welche man als mikroskopisch rein bezeichnen könnte. Der Bazillus der Methangärung der Cellulose hat die Neigung, leicht gekrümmte Stäbchen zu bilden und findet sich in jungen Entwicklungszuständen fast niemals zu Ketten verbunden vor. Mit der weiteren Entwicklung nimmt der Bazillus die typische Wuchsgestalt des Trommelschlägels an und bildet schließlich Sporen. Die Abmessungen der letzteren sind merklich geringer als derjenigen des Bazillus der Wasserstoffgärung. Dort war die Größe der Sporen 1,5 μ, hier dagegen beträgt sie nur 1 μ. Abbildungen geben die *Fig. 1, 3, 5* der *Tafel VII*. In *Fig. 1* sehen wir die vegetativen Zellen des Bazillus in vollkommener Reinheit: Dünne, zarte Stäbchen, etwa 5 μ lang und ca. 0,4 μ breit, meistenteils sichelförmig gekrümmt. Einige lassen am Ende eine kaum bemerkbare Verdickung erkennen; es sind dies die ersten Anfänge der Sporenbildung. In *Fig. 3* ist der Methanbazillus im Zustande der Vorherrschaft der Trommelschlägelgestalt in allen Stufen ihrer Entwicklung abgebildet. Zuerst bemerkt man an dem einen Pol eine kaum sichtbare Schwellung auftreten, welche sich gut färben läßt. Allmählich wird diese breiter, indem sie gleichzeitig an Färbefähigkeit einbüßt. Mit zunehmender Reife der Spore stirbt das mit ihr verbundene Stäbchen, die Mutterzelle, nach und nach ab. In keinem einzigen Augenblick der Sporenbildung liefert dieser Mikroorganismus mit Jod eine Blaufärbung, mithin fehlt hier, ebenso wie auch beim Wasserstoffbazillus, das charakteristische Merkmal des *Amylobacter*. Die Papierfaser ist auf diesem Präparate mit Mikrobenleibern sozusagen vollgestopft. *Fig. 5* bringt eine Abbildung der Sporen des Methanmikroben. Die Abmessungen der Sporen und der vegetativen Zellen sind beim Methanbazillus, wie man bemerken kann, etwas kleiner als beim Wasserstoffbazillus. Allerdings sind diese morphologischen Unterschiede äußerst geringfügig. Morphologisch lassen sich diese beiden Mikroben gleichsam zu einer einzigen Art vereinigen, physiologisch aber unterscheiden sie sich voneinander: denn unter ganz gleichen Lebensbedingungen bringt der eine Methan, der andere Wasserstoff hervor.

Die große Aehnlichkeit dieser zwei Mikroben könnte auf den Gedanken bringen, daß beide einer einzigen Art angehörten und daß die Fähigkeit, das eine oder das andere Gas auszuscheiden, von äußeren Umständen abhinge. Man könnte annehmen, daß dieser Bazillus normalerweise Methan entwickelt und nur unter dem Einflusse der Erhitzung, jenes sozusagen klassischen Verfahrens zur Abschwächung der Lebenstätigkeit, und vielleicht auch unter dem Einflusse noch anderer, bisher noch nicht geprüfter Bedingungen diese Fähigkeit einbüßt, und nun, indem er sich langsam und schwach entwickelt, weiterhin Wasserstoff bildet. Das Eintreten einer so dauerhaften Veränderung des Prozesses unter Einfluß der Erhitzung wäre selbstverständlich eine höchst interessante Tatsache, jedoch müssen die oben beschriebenen Versuche, welche zu diesem Verfahren geführt haben, eine derartige Schlußfolgerung vollkommen widerlegen. Wir sehen ja gerade, daß dieses Verfahren zur Trennung der Gärungen einen Umschlag der Methangärung in Wasserstoffgärung nur in den ersten Ueberimpfungen bewirkt, in denen die Zucht der Methangärung noch nicht rein ist, während seine Anwendung bei den weiteren Ueberimpfungen ganz erfolglos ist. Demnach haben wir hier zwei spezifisch verschiedene Prozesse, und der

Umstand, daß man die beiden Erreger unter dem Mikroskop voneinander unterscheiden kann, löst die Frage endgültig in dem Sinne, daß es zwei verschiedene Mikroben der Cellulosegärung gibt, den Mikroben der Wasserstoffgärung und den der Methangärung.

Die Versuche, Zuchten des Methanbazillus auf festem Nährboden zu erzielen, waren auch hier, wie beim Wasserstoffbazillus, nicht von Erfolg gekrönt.

Die **quantitativ-analytische Erforschung der Methangärung** der Cellulose, welche OMELIANSKI mit einer mikroskopisch reinen Zucht des Methanbazillus vorgenommen hat führte zu nachfolgenden Ergebnissen:

Der Versuch wurde am 11. Dezember 1900 begonnen und am 26. April 1901 beendet, dauerte also $4^{1}/_{2}$ Monate. In einen langhalsigen Kolben von ca. 500 ccm Inhalt wurden 2,1884 g lufttrockenes schwedisches Papier (Munktel Nr. 1) gebracht, was nach Abzug der Feuchtigkeit und der Asche 2,0685 g reiner Cellulose entspricht. Nach Zusatz von 4,9482 g Kreide wurde der Kolben ganz mit mineralischer Nährlösung, die 0,1 Proz. Ammoniumphosphat enthielt, befüllt. Beimpft wurde mit einem 0,0130 g schweren Stückchen Papier aus einer durch elektive Züchtung gereinigten Zucht, und zwar derselben, aus welcher das Präparat für die *Fig. 1* der *Tafel VII* angefertigt worden ist. Es befanden sich somit im Kolben zu Versuchsbeginn 2,0685 + 0,0130 g Cellulose. Der Kolben wurde mit einem Kautschukstopfen verschlossen, welcher ein in Quecksilber tauchendes Gasableitungsrohr hindurchließ. Der Hals des Kolbens wies an seinem oberen Ende eine napfförmige Erweiterung auf, welche gestattete, den Stopfen mit Quecksilber zu bedecken. Die Gärung begann am 9. Januar 1901, also ungefähr erst einen Monat nach der Beimpfung. Während der ganzen Dauer der Gärung wurde das entweichende Gas in Mengen von 15—35 ccm gesammelt und analysiert. Die Menge des pro Stunde entbundenen Gases betrug nach Ablauf von vier Wochen nach der Beimpfung ca. 0,1 ccm, stieg darauf in den nächsten Tagen rasch an, erreichte schon binnen vier Tagen den Höchstwert von ca. 1,1 ccm, um von da an bis zur Beendigung des Versuches (am 26. April) ziemlich rasch auf ca. 0,01 ccm zu fallen. Es war stets ein Gemisch von Kohlensäure und Methan. Letzteres war am reichlichsten, mit ca. 75 Proz., am Anfange vertreten und verringerte sich ziemlich rasch, um dann bei einem Gehalte von ca. 30 Proz. sich ziemlich unverändert bis zum Schlusse zu behaupten. Die Gesamtmenge des entbundenen Gases betrug 552,2 ccm, von denen 190,8 ccm (= 0,1372 g) auf Methan und 361,4 ccm (= 0,7146 g) auf Kohlensäure entfielen. Wenn wir zu dieser Menge noch 0,5115 g der gelösten Kohlensäure hinzuzählen und die aus der Kreide stammenden 0,3583 g dieses Gases abziehen, so finden wir, daß bei der Zersetzung der Cellulose selbst 0,8678 g Kohlensäure gebildet worden sind. Der am Schlusse des Versuches am Grunde der Flüssigkeit vorhandene Absatz enthielt, nebst unzersetzter Kreide, übrig gebliebenes Papier, dessen Trockengewicht zu 0,075 g bestimmt wurde. Die Mengen der in der vergorenen Flüssigkeit vorhandenen flüchtigen organischen Säuren, und zwar hauptsächlich Essigsäure und daneben nur noch Buttersäure, standen im Verhältnisse von 9 Mol. Essigsäure zu 1 Mol. Buttersäure. Deren Gesamtmenge wurde zu 1,0223 g berechnet.

Die **Bilanz der Methangärung der Cellulose** in diesem Versuche stellte sich also wie folgt:

Gärmaterial: Cellulose.		Gärprodukte:	
Zum Versuch verwendet	2,0815 g	Fettsäuren	1,0223 g
Unzersetzt geblieben	0,0750 „	Kohlensäure	0,8678 „
Durch d. Gärung verschwunden	2,0065 g	Methan	0,1372 „
		Zusammen	2,0273 g

Der sich daraus ergebende Ueberschuß von 0,0208 liegt innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler.

Aus den angeführten Zahlen ersehen wir, daß ca. 50 Proz. aller Gärungsprodukte der Cellulose gasförmige Produkte, Methan und Kohlensäure sind, die übrigen 50 Proz. aber auf Essigsäure und Buttersäure entfallen.

Die erhaltenen Befunde unterscheiden sich wesentlich von den Angaben Hoppe-Seyler's, der als Gärprodukte nur zwei Gase, das Sumpfgas und die Kohlensäure, angeführt hat (s. S. 249). Dieser Widerspruch erklärt sich bei näherer Betrachtung sehr leicht. Da Hoppe-Seyler seinen Kolben mit einer großen Menge Kloakenschlamm beimpft hat, so ist dadurch sicherlich eine überaus reiche Flora von niederen Organismen hineingelangt. Unter diesen befanden sich wahrscheinlich auch die beschriebenen typischen Erreger der Methangärung der Cellulose. Die dank deren Tätigkeit sich bildenden flüchtigen Säuren, hauptsächlich Essigsäure, gingen eine neue Gärung mit Entwicklung von Sumpfgas sowie Kohlensäure (Methangärung der Essigsäure) ein. Auf diese Weise konnte man leicht zu dem Ergebnis gelangen, die Gärung der Cellulose liefere bloß zwei Gase, nämlich Sumpfgas und Kohlensäure.

Ein anderer Punkt, dessen Klarstellung sehr wichtig ist, wenn man eine natürliche Erscheinung und zumal eine solche künstlich in Gang setzt, die, wie die Zerstörung der Cellulose, in der Natur in so großem Maßstabe sich abspielt, besteht in der Beantwortung der Frage, wie weit der Versuch im Laboratorium der Größe und Intensität des natürlichen Vorganges entspricht. Der erste Eindruck ist ein derartiger, als gehöre nicht nur die Wasserstoffgärung sondern auch die verhältnismäßig lebhaftere Methangärung der Cellulose zu denjenigen Prozessen, welche äußerst langsam und schwer von statten gehen; die Erfolge derselben — einige Gramm zersetzter Cellulose nach Ablauf von Monaten — sind sehr wenig imponierend. Der Gegensatz zwischen den Versuchen im Laboratorium und der Größe der Vorgänge in der Natur ist hier allzu auffallend, und es erstehen so unwillkürlich Zweifel, ob wir wohl berechtigt seien, die Beteiligung der oben beschriebenen Mikroben an den Naturvorgängen für einigermaßen bedeutend zu halten.

Es ist leider unmöglich, ein sicheres Kennzeichen zum Vergleiche der angeführten Versuche mit dem natürlichen Vorgange der Cellulosezerstörung ausfindig zu machen, da keine quantitativen Beobachtungen über die Zersetzung der Cellulose in der Natur vorliegen. In der Literatur der Frage kann man nur Untersuchungen über die Zersetzung des Stallmistes finden, einer Unterlage, in welcher bekanntlich eine überaus energische Methangärung sich abspielt. Ein Vergleich mit den Versuchen Gayon's (1), welcher aus 1 cbm Stallmist im Laufe von 24 Stunden bis zu 100 l Sumpfgas gesammelt hat, ist nicht zulässig, da das Gewicht des Stoffes nicht bekannt ist. Genauere Angaben finden wir in den Untersuchungen Schloesing's (1). In einem Versuche wurden aus 117 g frischen Stallmistes, denen 25 g Trockensubstanz ent-

sprachen, in 2 Monaten 9 l Gas, darunter 4,5 l Methan, ausgeschieden, was pro 1 g Trockensubstanz und Stunde 0,12 ccm Methan ausmacht. Besonders energisch war die Gasbildung am sechsten Tage, an welchem sie auf 1 kg frischen Stallmistes oder 235 g Trockensubstanz 1400 ccm erreichte; es entwickelten sich also pro 1 g Trockensubstanz und Stunde 5 zusammen 0,25 ccm Methan und Kohlensäure. Ein unmittelbarer Vergleich dieser Zahlen mit den Angaben von OMELIANSKI wäre kaum statthaft, da es eine Uebertreibung wäre, wollte man die ganze Trockensubstanz des Mistes für Cellulose ansehen; doch besteht der Stallmist immerhin zum größten Teile aus Cellulose, und da große Sumpfgasmengen 10 entschieden eine intensive Gärung dieser Cellulose anzeigen, so mag es doch einigermaßen statthaft erscheinen, die Ziffern OMELIANSKI's mit denen von SCHLOESING zu vergleichen. In OMELIANSKI's quantitativem Versuche über die Methangärung der Cellulose schwankte die Menge des ausgeschiedenen Sumpfgases, welche man als Maß für die Heftig- 15 keit der Gärung ansehen kann, im Laufe eines Monates innerhalb der Grenzwerte 0,05 und 0,22 ccm pro Stunde, auf 1 g trockene Cellulose berechnet; sie ging mithin im Mittel mit derselben Schnelligkeit von statten wie im Versuche SCHLOESING's. Vergleichen wir nur die Perioden des Höhepunktes, so sehen wir, daß die Gesamtausscheidung des Gases 20 bei SCHLOESING sich nur einen Tag lang auf 0,25 ccm pro Stunde hielt, in OMELIANSKI's Versuch aber 10 Tage lang gegen 0,5 ccm betrug, also doppelt so groß war, und erst am 24. Gärungstage bis auf 0,23 ccm Gas pro Stunde hinabsank.

Mit der Methangärung verglichen, ist die Kräftigkeit der Wasser- 25 stoffgärung der Cellulose bedeutend geringer. Im Laufe der ersten drei Wochen der Gärung schwankte die Wasserstoffmenge, welche von 1 g Papier stündlich ausgeschieden wurde, zwischen den Werten 0,014 und 0,058 ccm, d. h. die Wasserstoffentwicklung ging im Mittel 2–10mal langsamer vor sich als die Methangärung. 30

Wir sehen, wie schnell bei genauerem Vergleichen die imponierende Größe der natürlichen oder quasi-natürlichen Prozesse vor unseren Augen schwindet und die Schwäche und Langsamkeit der im Laboratorium bewerkstelligten Gärungen sich nur als eine scheinbare erweist.

Es bot weiter ein besonderes Interesse die Frage über die Einwirkung 35 der oben beschriebenen Mikroben auf solche Cellulose zu prüfen, welche sich innerhalb der Pflanze, sozusagen in ihren natürlichen Lageverhältnissen, befindet und gegen die Einwirkung der Mikroben durch die umgebenden histologischen Elemente geschützt ist. Es mußte festgestellt werden, inwieweit der Prozeß der Cellulosezersetzung unter derartigen 40 Bedingungen, welche sich den bei der natürlichen Zerstörung des Pflanzenskelettes zu beobachtenden einigermaßen nähern, erfolgreich von statten gehen kann.

Versuche darüber hat OMELIANSKI (3) mit Leinstengeln angestellt, in denen, wie überhaupt bei allen Textilpflanzen, die Cellulose auf be- 45 stimmte Gewebsschichten beschränkt und infolgedessen vergleichend-histologischen Untersuchungen viel zugänglicher ist. Aus Leinstengeln wurden Bündelchen von verschiedener Größe, je nach dem Fassungsvermögen der zu verwendenden Gärungsgefäße, bereitet und mit dünnem Platindraht zusammengehalten. Auf den Boden der Gefäße wurde eine 50 geringe Menge Kreide bzw. Marmor geschüttet, hierauf mit der oben angeführten Salzlösung (s. S. 252) oder mit Flußwasser befüllt und sterilisiert und dann mit dem Methanbazillus beimpft. Es ergab sich nun

aus diesen Versuchen, daß bei einer Länge der Leinstengelstücke von 7 cm sämtliche Cellulose der Leinfasern zerstört wird, so daß die gut getrockneten ausgegorenen Stengel beim Reiben zwischen den Fingern leicht in Spreu zerfielen. Die mikroskopische Untersuchung von 5 Schnitten zeigte, daß von den Bastfaserbündeln und den sie umgebenden



Fig. 38. Querschnitt durch einen Flachsstengel in natürlichem Zustande; läßt deutlich an seinem Umfange die in einem fast ganz geschlossenen Ringe stehenden Bündel von Bastfasern erkennen. — Vergr. 50. Nach OMELIANSKI.



Fig. 39. Querschnitt durch einen Flachsstengel, welcher der Einwirkung von Cellulosebakterien ausgesetzt war und dadurch seine Bastfasern vollständig eingebüßt hat. — Vergr. 50. Nach OMELIANSKI.

Elementen keine Spur mehr übrig geblieben war, so daß die Epidermis des Leinstengels unmittelbar den Kern umhüllte, was aus den obenstehenden *Fig. 38* und *39* sehr deutlich zu ersehen ist. Bei Leinbündeln von je 50 cm Länge erreichte aber die Cellulosegärung, trotz der langen 10 Dauer des Versuchs, dennoch nicht ihr Ende. Jedenfalls kann man aus diesen Versuchen den Schluß ziehen, daß auch in Geweben die Cellulose leicht der Bakterieneinwirkung zugänglich ist.

§ 75. Die Zersetzung der Cellulose durch denitrifizierende Bakterien, aerobe Bakterien und Schimmelpilze. Die Cellulase.

15 Der oben beschriebene Vorgang der anaeroben Cellulosevergärung umfaßt augenscheinlich bei weitem noch nicht alle möglichen Bedingungen, unter denen diese Zersetzung sich abzuspielen vermag. In der Natur kann die Cellulose auch durch andere Mikroben unter anderen Bedingungen abgebaut werden. Leider sind diese verschiedenen Vorgänge 20 verhältnismäßig sehr wenig studiert worden, insbesondere vom bakteriologischen Standpunkte aus, weshalb sie hier nur ganz kurz erwähnt werden sollen.

Schon im Jahre 1875 beobachtete MEUSEL, daß bei Anwesenheit von Cellulose die **denitrifizierenden Bakterien** Nitrate zu Nitriten reduzieren.

Neuerdings hat VAN ITERSON (1) durch Versuche mit schwedischem Papier, Leinfasern, Baumwolle und Papierpülpe diesen Befund bestätigt und eingehender verfolgt. Er fügte eines der Cellulosepräparate in einer Menge von 2 Proz. einer Flüssigkeit von nachfolgend angegebener Zusammensetzung zu: Leitungswasser 100 ccm, KNO_3 0,25 g und K_2HPO_4 0,05 g. Der Kolben 5 wurde bis oben aufgefüllt, mit einer geringen Menge Kanalschlamm beimpft und dann unter anaeroben Bedingungen bei 35° gehalten. Ungefähr nach einer Woche trat Gärung ein, welche Cellulosezersetzung, Entwicklung von Nitriten und Ausscheidung von Stickstoff und Kohlensäure zur Folge hatte. Nach 12 Tagen nahm die Heftigkeit der Gärung zu, so daß die 10 Papierfetzen durch den Gasstrom emporgetrieben wurden. Bei Erneuerung des Nährmaterials wurde die Denitrifikation und die sie begleitende Cellulosezersetzung bedeutend verstärkt. Die sichtbaren Veränderungen, welche die Cellulose hierbei erleidet, unterscheiden sich gar nicht von jenen, welche man bei der anaeroben Cellulosezersetzung 15 beobachtet. In den Zuchten fanden sich, nebst sporenlosen Bazillen, Infusorien, Amöben, Monaden und Vibrionen, jedoch war keiner der Versuche, irgend eine Art, welche als für diesen Prozeß spezifische anzusehen wäre, rein zu züchten, von Erfolg gekrönt. Laut Angaben von VAN ITERSON verschwand die Cellulose in seinen Versuchen fast 20 ebenso rasch wie bei der anaeroben Cellulosezersetzung in den Versuchen OMELIANSKI's.

Cellulose kann auch bei völligem Luftzutritt durch allgemein verbreitete, nicht sporenbildende, **aerobe Bakterien** zersetzt werden, worunter eine braune Pigmentbakterie, *Bacillus ferrugineus* VAN ITERSON, am 25 häufigsten ist. Besonders in Symbiose mit einem gelben Mikrokokkus, der selber wirkungslos ist, wirkt jener sehr kräftig abbauend. Nach Angaben VAN ITERSON's wird diese Zersetzung am besten wahrgenommen, wenn man nachfolgend angegebenen Nährboden anwendet: Leitungswasser 100 g, Papier 2 g, NH_4Cl 0,1 g, K_2HPO_4 0,05 g, Kreide 2 g. Man 30 züchtet bei 28—35° in Erlenmeyerkolben in einer Schicht von etwa 0,5—1 cm Höhe, also unter ausgeprägt aeroben Bedingungen.

Der Befund, daß **Schimmelpilze** auf Cellulose zersetzend einwirken können, wurde zuerst im Jahre 1886 durch DE BARY (1) für *Peziza libertiana* erhoben und dann in betreff anderer Schimmelpilze von KISS- 35 LING (1), MARSHALL WARD (1), BEHRENS (1) u. a. bestätigt. VAN ITERSON schlägt folgendes Verfahren vor, durch welches man die celluloselösenden Schimmelpilze mit großer Sicherheit aus der Natur abscheiden kann. Zu dem Zwecke werden in eine Glasschale zwei sterile Scheiben schwedischen Filtrierpapiers gebracht und mit nachfolgend angegebener 40 Flüssigkeit angefeuchtet: Leitungswasser 100 g, NH_4NO_3 0,05 g, KH_2PO_4 0,05 g. Als Impfmaterial kann man Erde oder Humus gebrauchen; die besten Erfolge werden aber erzielt, wenn man die Schale ungefähr 12 Stunden offen an der Luft stehen läßt. Man hält bei 24° C und sorgt dafür, daß das Papier feucht bleibt. Nach 2—3 Wochen bedeckt sich 45 die Papierscheibe mit einer reichen Schimmelpilzflora, wonach die einzelnen Pilze auf Malzgelatine reingezüchtet werden. Um die Zersetzung der Cellulose durch diese Schimmelpilze zu studieren, wurden ihre Reinzuchten auf Filtrierpapier übergeimpft, welches nach dem Sterilisieren mit obengenannter Lösung getränkt worden war, und zwar so, daß man 50 die Sporen mit dem Platindraht in das Papier brachte. Auf diese Weise konnte man von mehreren Arten prachtvolle Zuchten gewinnen. Die Wucherung der Schimmelpilze auf den Papierscheiben geht mit deren

Zersetzung Hand in Hand, wobei die Heftigkeit ihres Verlaufes von der Art der Pilze abhängt. So zerstören *Mycogone puccinioides*, *Botrytis vulgaris* u. a. die Cellulose sehr kräftig, *Cladosporium herbarum*, *Chaetomium kunzeanum* u. a. schon schwächer, *Aspergillus niger* noch schwächer.
5 Einige Schimmelpilze schließlich, so *Mucor mucedo* und *Rhizopus nigricans*, wirken gar nicht auf die Cellulose ein.

Wir sehen also, daß die Eigenschaft der niedrigen Kleinlebewesen, die Cellulose anzugreifen und sie zu löslichen und gasförmigen Spaltprodukten allmählich abzubauen, eine sehr weit verbreitete ist. Vor
10 allem ist nun die Frage aufzuwerfen, welches der Charakter dieser Einwirkung der Mikroorganismen auf die Cellulose ist? Leider können wir hier vor der Hand nur Vermutungen äußern.

Da die Cellulose in Wasser ganz unlöslich ist, kann man annehmen, daß die Erreger ihrer Vergärung ein Enzym ausscheiden, welches dieses
15 Kohlenhydrat möglicherweise zuerst in eine lösliche Verbindung überführt (Hydratation?). Die äußeren Merkmale des Prozesses der anaeroben Zersetzung der Cellulose deuten aber darauf hin, daß ein solches Enzym sich nicht in der Flüssigkeit anhäuft; denn die Zerstörung der Cellulosemassen findet nur unter dem Einflusse unmittelbarer Berührung mit den
20 Zellen des Cellulosevergärers statt. Infolgedessen haben die Versuche, ein celluloselösendes Enzym, **Cellulase**, aus den Zuchten abzuscheiden, bis jetzt keinen Erfolg gehabt. Es gibt nur wenige, zweifelhafte Anzeichen dafür, z. B. die von van Senus (1) gemachten Beobachtungen. Diesem ist es gelungen, aus Wasser, in welchem zwei faulende Rüben
25 zerrieben worden waren, vermittelst Alkohol eine Substanz auszufällen, welche in alkalischer Lösung unter Chloroformzusatz bei 37° nach mehrtägiger Einwirkung die Cellulose in Bohnenschnitten teils auflöste, teils deutlich anfraß.

Etwas bestimmter sind unsere Kenntnisse über die physiologischen
30 Cellulasen aus höheren Pflanzen. Sachs hat gezeigt, daß bei der Keimung der Dattel der harte Zellstoff, der in Form von verdickten Zellwänden die Hauptmasse des Dattelkerns darstellt, allmählich aufgelöst und dann von dem Keimling aufgesogen wird. Ebenso haben Brown und Morris aus dem Malzextrakt durch Fällen mit Alkohol und Austrocknen im
35 Vacuum eine Cellulase abgeschieden, welche fähig war, einige Celluloseararten, z. B. die Hüllen der Stärkekörner, aufzulösen. Von den tierischen Verdauungssäften können wir bis jetzt keinem die Fähigkeit, Cellulose anzugreifen, mit Sicherheit zuschreiben.

§ 76. Das Schicksal der Cellulose des Futters im Verdauungskanal
40 der Pflanzenfresser. — Ausblicke.

Die von Emil Wolff eine Zeitlang vertretene Ansicht, daß die in der Nahrung eingenommene Pflanzenfaser das Verdauungsrohr unverändert wieder verlasse, ist hinsichtlich der Wiederkäuer schon im Jahre 1854 durch Haubner (1) dadurch widerlegt worden, daß er zeigte,
45 daß sogar Sägespäne und Papierbrei, wenn man sie dem Futter beigemischt hatte, nur zu einem Teile (weniger als die Hälfte) wieder im Kote ausgeschieden werden. Diese Tatsache ist durch eingehende Untersuchungen von Henneberg und Stohmann (1) wie auch durch viele Ausnützungsversuche der landwirtschaftlichen Versuchsstationen ergänzt
50 und bestätigt worden. Am höchsten wurde der Unterschied zwischen

Einnahme und Ausgabe an Cellulose (d. i. „Rohfaser" bei den Wiederkäuern (bis zu 75 Proz.) gefunden, bei Pferden nur bis zu 50 Proz., noch geringer beim Menschen und beim Schweine. Nach Angaben von KNIERIEM (1) verdaut der Mensch von der Cellulose zarter Blätter des Salates 25,3 Proz., von der schon ziemlich verhärteten Rohfaser der 5 *Scorzonera hispanica* dagegen nur 4,4 Proz. Nach WEISKE (1) ist das Verdauungsprozent der Holzfaser der aus Möhren, Kohl und Sellerie bestehenden Nahrung viel höher und erreicht ungefähr 50 Proz. (47,3 bis 62,7 Proz.). Bei Fleischfressern (Hunden) hingegen konnte ein Unterschied zwischen Einnahme und Ausgabe an Cellulose nicht aufgefunden 10 werden.

Man kann annehmen, daß die Cellulose der Zellwand der Verdauung um so mehr zugänglich ist, je weniger sie verändert ist, d. h. je weniger die Zellwand eine Verholzung, Verkorkung oder Cuticularisierung erfahren hat. Aber auch die echte Cellulose muß, um zur Aufnahme in die 15 Körpersäfte tauglich zu werden, vorher, ebenso wie Eiweiß und Stärke, in Lösung gebracht werden. Die Hauptrolle in diesem Auflösungsvorgange kommt ohne Zweifel den Bakterien zu, unter deren Einwirkung die Cellulose im Darmkanale zu gasförmigen und löslichen Spaltprodukten abgebaut wird. Zur Leistung dieser Arbeit ist der Verdauungskanal 20 der Wiederkäuer viel besser als derjenige der Fleischfresser geeignet. Dank dessen ungeheuren Länge kann sich der Speisenbrei in ihm viel länger aufhalten und können Zersetzungsvorgänge, insbesondere ein so langsam verlaufender, wie die Cellulosegärung es ist, stärker sich geltend machen. Auf die kräftigen Gärungsvorgänge im Verdauungskanale der 25 Wiederkäuer weisen mit Sicherheit die beträchtlichen Mengen von Darmgasen bei ihnen und der reichliche Gehalt des Harnes an jenen aromatischen Substanzen hin, die man mit Recht als durch Fäulnisvorgänge im Darmkanale entstanden ansieht.

Der hauptsächliche Ort der Zersetzung der Cellulose im Verdauungs- 30 kanal der Pflanzenfresser ist der Pansen und der Blinddarm des Rindes und der Dickdarm des Pferdes. Im Labmagen der Wiederkäuer wird die Cellulose nicht verdaut (P. HOLDEFLEISS [1]). Um nähere Einsicht in die Gärungsvorgänge in den verschiedenen Abteilungen des Verdauungskanales der Pflanzenfresser bei Heufütterung zu erhalten, hat 35 TAPPEINER (1) die Zusammensetzung der **Darmgase** in ihnen einer genaueren Untersuchung unterworfen. Das Auffangen der Gase geschah unmittelbar nach dem Tode des Tieres; ferner wurden jedesmal Proben des Inhalts der einzelnen Darmabschnitte weiterer Gärung überlassen und die Zusammensetzung der sich dabei entwickelnden Gase, 40 sowie auch die Säurebildung bestimmt. Aus diesen Versuchen hat TAPPEINER den Schluß gezogen, daß im Verdauungskanale der Pflanzenfresser zwei Arten von Sumpfgasgärung stattfinden, die eine mit Bildung von Säuren (in dem Pansen des Rindes und in dem Dickdarme des Pferdes), die andere ohne solche (im Blinddarme des Rindes). Da nun 45 die Methanbildung wahrscheinlich der Vergärung der Cellulose zugeschrieben werden muß, so könnte man annehmen, daß diese Abschnitte des Darmkanals gerade die Orte sind, an denen die Cellulosegärung kräftig von statten geht. Dieser Schluß kann aber nur mit Vorbehalt angenommen werden, weil es auch andere Stoffe, wie Eiweiß, Essig- 50 säure u. a. gibt, welche als Material für die Methangärung dienen können.

Um die Bedeutung der Cellulose als Nährstoff zu beurteilen, müssen wir den **Energiegewinn** bei deren Zersetzung durch Bakterien,

wie auch den Nährwert der gesamten Gärprodukte bestimmen. Was die Bedeutung der Cellulosegärung als eines spannkraftliefernden Vorganges betrifft, so erreicht die Wärmeentwicklung bei der Gärung von 100 g Cellulose nach Angaben von HENNEBERG und STOHMANN ungefähr 5 44, 376 Kal., nach Angaben von BERTHELOT aber nur 41,0 Kal., ist also etwas höher als die Wärmeentwicklung bei der Alkoholgärung (37 Kal.).

Von den Produkten der Cellulosegärung scheiden die gasförmigen (Methan und Wasserstoff) als solche direkt aus dem Darmkanale aus und müssen also als für die Tiere ganz wertlos angesehen werden. 10 TAPPEINER meint, daß auch ein beträchtlicher Teil der flüchtigen Säuren mit dem Harn und dem Kote ausgeschieden werde. Nach Versuchen von WILSING (1) und MALLÈVRE (1) aber werden die flüchtigen Säuren im tierischen Organismus zum größten Teil aufgesogen und abgebaut. Wie dem auch sei, jedenfalls müssen wir annehmen, daß der Verdauungs- 15 koeffizient der Cellulose, als eines Kohlenhydrates, nach der Gärung eine starke Herabsetzung sich hat gefallen lassen müssen und ihr Wert als Nährstoff beträchtlich unter demjenigen ihres Vorrats an Spannkraft steht, also auch unter dem der anderen Kohlenhydrate.

Die Cellulosegärung wirkt mittelbar noch insofern günstig, als durch 20 die Auflösung der Zellhäute der Zellinhalt der pflanzlichen Nahrung bloßgelegt und so den Verdauungssäften leichter zugänglich wird. Dieser Umstand hat besonders für die Wiederkäuer und die Vögel eine große Wichtigkeit, da bei ihnen die Cellulosezersetzung schon im Vormagen, bzw. im Kropfe, d. h. am Anfange des Verdauungskanals, vor sich geht. 25 Diese Erwägungen geben Anhaltspunkte zur Beurteilung der rationellen Ernährung der beiden Kategorien unserer Nutztiere. Das Pferd ist wenig geeignet, Nahrungsmittel zu verwerten, welche die Hauptmasse ihrer Nährstoffe in zähen, durch das Kauen nicht zu zersprengenden Cellulosehüllen eingeschlossen enthalten, für den Wiederkäuer ist da- 30 gegen eine derartige Nahrung die naturgemäße (ZUNTZ [2]). —

Aus allem Vorhergehenden ersehen wir also, daß die Frage betreffend die Zersetzung der Cellulose durch Bakterien dank den Arbeiten der letzten Jahre nunmehr auf eine für deren Beantwortung geeignete Grundlage gestellt ist: wir kennen jetzt fein spezialisierte und chemisch 35 im höchsten Grade angepaßte Gärerreger, welche auf die am schwersten lösliche und am schwierigsten zersetzbare Abart dieser Substanzen, die typische Cellulose, einwirken. Diese Mikroben nehmen sicherlich auch in der freien Natur an der Cellulosezersetzung regen Anteil, da sie überall dort, wo diese Zersetzung stattfindet, im Boden, im Fluß- und 40 Sumpfschlamm, im Mist, im Darmkanale der Pflanzenfresser usw., vorgefunden worden sind. Unbeschadet der bisher erzielten Erfolge bleibt jedoch auf diesem Gebiete noch sehr vieles unaufgeklärt und ist das Feld für weitere Forschungen noch ein sehr weites. Aus der ganzen Gruppe von Substanzen, welche wir unter dem gemeinsamen Namen 45 „Cellulose“ zusammenfassen, kennen wir bis jetzt nur für eine ganz bestimmte Substanz den Zersetzungsvorgang und zudem sind von den zahllosen Bedingungen, unter denen sich dieser Vorgang in der Natur abspielt, fürs erste nur wenige Möglichkeiten studiert worden. Als Beispiel eines eigentümlichen Zerfalles der Cellulose kann der Ueber- 50 gang derselben unter dem Einfluß eines besonderen Enzymes (WIESNER [1]) in lösliche Gummistoffe dienen, welche einer weiteren Einwirkung von Mikroorganismen viel zugänglicher sind als die Ausgangscellulose.

Mit der Frage betreffend die Cellulosezersetzung steht die Frage

betreffend die Bildung der sogenannten Huminkörper, des Torfes, der Braunkohle usw. in engem Zusammenhange. Bis jetzt konnte jedoch die Teilnahme von Mikroorganismen an diesen Prozessen mit Sicherheit nicht nachgewiesen werden, obgleich sie nicht bezweifelt werden kann. Es gibt wohl vereinzelte Hinweise auf die Bildung von braungefärbten Produkten, welche den Huminkörpern nahe verwandt sind, bei der Zersetzung der Cellulose durch Mikroben (namentlich aerobe), jedoch können diese vereinzelten Beobachtungen die Frage nach der Entstehung der Huminkörper noch lange nicht entscheiden. Zu erwähnen ist noch, daß es van Tieghem (2) und besonders Renault (1) gelungen ist, die Ueber- 10 reste von Mikroorganismen in Dünnschliffen von Steinkohlen mit Sicherheit festzustellen. In wie weit aber diese Mikroorganismen bei der Bildung von Steinkohle mitgewirkt haben, muß dahingestellt bleiben.

Eine weitere Förderung der Frage betreffend die Cellulosegärung und ihre Erreger müssen wir von den Fortschritten der Chemie jener 15 Substanzen erwarten, die wir unter dem Sammelnamen „Cellulose" zu einer Gruppe vereinigen. Jedoch bevor wir nicht über genaue Merkmale (nicht bloß konventionelle und willkürliche, wie bis jetzt) verfügen, welche uns gestatten, die einzelnen Vertreter dieser Gruppe voneinander zu unterscheiden und streng zu kennzeichnen, bevor wir nicht diese, 20 durch unzählige Uebergänge miteinander verbundenen Substanzen zu trennen verstehen, kann von einem eingehenden bakteriologischen Studium der Frage nicht die Rede sein. Jetzt kann nur das eine behauptet werden, daß nämlich mit der Zeit die Anzahl der Cellulosevergärer (wobei mit der Bezeichnung „Cellulose" im weiten Sinne alle 25 im Pflanzenreiche vorkommenden Celluloseарten gemeint sind) eine bedeutend größere werden wird. Ganz besonders ist dieses in betreff jener Substanzen zu erwarten, welche, wie die Hemicellulosen und ihnen ähnliche Stoffe, eine viel größere Reaktionsfähigkeit besitzen und wahrscheinlich durch Mikroben leichter angegriffen werden als die typische 30 oder normale Cellulose.

Weil die Frage betreffend die Cellulosezersetzung durch Bakterien eine befriedigende Lösung erst in der letzteren Zeit erhalten hat, so ist es begreiflich, daß das bisher erreichte noch keine entsprechende Anwendung in der Technik finden konnte. Es unterliegt aber keinem 35 Zweifel, daß in der Zukunft das wissenschaftliche Studium dieser Frage den verschiedenen Gebieten der chemischen Technologie und praktischen Hygiene bedeutende Dienste erweisen wird. Als Beispiel sei hier H. L. W. Völker's (1) Verfahren zur Verarbeitung der Kartoffeln auf Stärke mittelst Zerstörung der Zellhäute durch Verrottung erwähnt. 40 Ein näheres Studium der Biologie der Cellulosevergärer muß zweifelsohne seine Wirkung auf die zielbewußte Führung dieses Prozesses in der gewünschten Richtung ausüben. Einige zugehörige Bemerkungen und Untersuchungen hierüber findet man bei O. Saare (1 u. 2).

Als Beispiel aus einem anderen Gebiete kann die Frage betreffend 45 die biologische Abwässerreinigung dienen. Wie im 15. Kapitel näher dargelegt werden wird, nimmt an den Vorgängen, die sich im Reduktionsbehälter („Septic tank") abspielen, die Cellulosezersetzung einen sehr bedeutenden Anteil. Daraus sind ohne weiteres die Vorteile erkennbar, welche die Technik aus der Bekanntschaft mit den Cellulosevergärern 50 bei der Einrichtung dieser Behälter ziehen kann.

Die Cellulosegärung spielt auch bei der Bereitung von Braunheu (s. 24. Kap. d. I. Bds.) und von Sweet Ensilage und Sauerfutter (s. 19.

u. 20. Kap. d. II. Bds.) eine Rolle, wo sie eine der Hauptursachen der mit jenen Verfahren verbundenen großen Substanzverluste ist, über welche in den angeführten Kapiteln nähere Angaben zu finden sind.

Literatur

zum Kapitel Die Cellulosegärung.

*__Bary, A. de,__ (1) Bot. Ztg., 1886, Bd. 44, S. 377. *__Behrens,__ J., (1) Z. f. Pflanzenkrankheiten, 1893, Bd. 3, S. 84. — (2) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1897, Bd. 3, S. 584. — (3) Ebenda, 1898, Bd. 4, S 514. — (4) Ebenda, 1902, Bd. 8, S. 114. *__Berthelot,__ M., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1889, Bd. 109, S. 841. *__Dehérain,__ P. P., (1) Ann. agronomique, 1884, Bd. 10, S. 395. *__Gayon,__ U., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1884, Bd. 98, S. 528. *__Haubner,__ (1) Amts- und Anzeigeblatt für die landwirtschaftlichen Vereine des Königreichs Sachsen, 1854. *__Hébert,__ (1) Comptes rend. de l'Ac., 1892, Bd. 115, S 1321. *__Henneberg__ und __Stohmann,__ (1) Beiträge zur Begründung einer rationellen Fütterung der Wiederkäuer, 1860, Heft 1, S. 100 u. 227; 1863, Heft 2, S. 342. — (2) Z. f. Biologie, 1885, Bd. 21, S. 613. *__Holdefleiß,__ P., (1) Cit. n. Chem. Centralbl., 1896, II., S. 499. *__Hoppe-Seyler,__ F., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1883, Bd. 16, S. 122. — (2) Z. f. physiolog. Chem., 1886, Bd. 10, S. 201 u. 401. *__van Iterson,__ (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 11, S. 689. *__Kissling,__ (1) Zur Biologie der Botrytis cinerea, Dissert. 1889. *__Knieriem,__ (1) Z. f. Biologie, 1885, Bd. 21, S. 67. — (2) Ebenda, 1888, Bd. 24, S. 293. *__Mallèvre,__ A., (1) Pflügers Archiv, 1891, Bd. 49, S. 460. *__Mitscherlich,__ (1) Monatsber. d. K. Akad. der Wiss. Berlin, 1850, S 104. *__Omelianski,__ W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 193. — (2) Ebenda, 1904, Bd. 11, S. 369. — (3) Ebenda, 1904, Bd. 12, S. 33. *__Popoff,__ (1) Pflügers Archiv, 1875, Bd. 10, S. 113. *__Prazmowski,__ (1) Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentierung einiger Bakterienarten, Leipzig 1880. *__Reinke__ und __Berthold,__ (1) Die Zersetzung der Kartoffel durch Pilze, 1881. *__Reiset,__ J., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1856, Bd. 42, S. 53. *__Renault,__ B., (1) Bullet. de la Soc. de l'Industrie minérale, 1899, Bd. 13; 1900, Bd. 14. *__Saare,__ O., (1) Z. f. Spiritusindustrie, 1883, Bd. 6, S. 1056; 1885, Bd. 8, S. 240; 1890, Bd. 13, S. 352 u. Ergänzungsheft S. 15. — (2) Die Fabrikation der Kartoffelstärke, Berlin 1897. *__Schloesing,__ (1) Comptes rend. de l'Ac., 1889, Bd. 109, S. 835. *__Schloesing__ père et fils, (1) Ann. agronomiques, 1893, Bd. 18, S. 5. *__van Senus,__ A. H. C., Bijdrage tot de kennis der cellulosegisting. Proefschrift, Leiden 1890; ref. in Kochs Jahresb., 1890, Bd. 1, S. 136. *__Tappeiner,__ H., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1881, Bd. 14, S. 2375. — (2) Ebenda, 1882, Bd. 15, S. 999. — (3) Ebenda, 1883, Bd. 16, S. 1734 u. 1740. — (4) Z. f. Biologie, 1883, Bd. 19, S. 228. — (5) Ebenda, 1884, Bd. 20, S. 52. — (6) Ebenda, 1888, Bd. 24, S. 105. — *__van Tieghem,__ Ph., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1879, Bd. 88, S. 205. — (2) Ebenda, 1879, Bd. 89, S. 25 u. 1102. — (3) Bull. de la Soc. Bot. de France, 1877, Bd. 24, S. 128. — (4) Ebenda, 1879, Bd. 26, S. 25. — (5) Ebenda, 1881, Bd. 28, S. 243. *__Trécul,__ A., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1865, Bd. 61, S. 156 u. 436. — (2) Ebenda, 1867, Bd. 65, S. 513. *__Völker,__ H. L. W., (1) Oesterr. Privilegium (Patent) v. 24. 12. 1832; Jahrbücher des k. k. polytechn. Institutes in Wien, 1839, Bd. 20, S. 318; Dinglers Journ., 1840, Bd. 76, S. 213. *__Ward,__ Marshall, (1) Annals of Botany, 1888/89, Bd. 11, S. 346. *__Weiske,__ (1) Z. f. Biologie, 1870, Bd. 6, S. 456. — (2) Ebenda, 1886, Bd. 22, S. 373. *__Wiesner,__ J., (1) Bot. Ztg., 1885, Bd. 43, S. 577. *__Wilsing,__ H., (1) Z. f. Biologie, 1885, Bd. 21, S. 625. *__Zuntz,__ N., (1) Landw. Jahrbücher, 1879, Bd. 8, S. 103. — (2) Pflügers Archiv, 1891, Bd. 49, S. 477.

(Manuskript-Einlauf: 17. August 1901.)

10. Kapitel.

Die Pektingärung.

Von Prof. Dr. J. Behrens.

§ 77. Allgemeines. Chemie und Verbreitung der Pektinstoffe.

Mit dem Namen Pektin bezeichnete Braconnot (1) einen schleimartigen, in Alkohol unlöslichen Körper, den er in wässerigen Auszügen von fleischigen Früchten und Wurzeln fand. Derselbe entsteht nach ihm durch die Einwirkung der organischen Säuren der Frucht oder von verdünnten Mineralsäuren auf einen unlöslichen Bestandteil der genannten Pflanzenteile, die Pektose. Nach Braconnot hat zunächst Frémy (1) die Pektinsubstanzen am eingehendsten untersucht. Ihm zufolge weichen die Pektinkörper in der Zusammensetzung von den zu den Kohlenhydraten gehörenden, in den physikalischen Eigenschaften sehr ähnlichen Pflanzenschleimen dadurch ab, daß das Verhältnis des Wasserstoffes zum Sauerstoff nicht 1 : 8 sondern höher (1 : 12 und mehr) ist. Neuere Untersuchungen, insbesondere von Scheibler (1), Reichardt (1), Bauer (1), Tromp de Haas (1) und anderen, haben das jedoch nicht bestätigt, sondern vielmehr ergeben, daß auch bei den Pektinsubstanzen das Verhältnis von H : O sich um 1 : 8 bewegt, daß sie also den Kohlenhydraten jedenfalls sehr nahe stehen, und es wird das auch durch das Studium ihrer Spaltungsprodukte bestätigt: Wohl und Nissen (1) stellten aus Rübenpülpe einen Pektinstoff dar, welcher bei der Hydrolyse mit verdünnten Säuren Pentose, bei der Oxydation Schleimsäure gab, was Herzfeld (1) bestätigte. Bauer wies in Birnenpektin durch Schleimsäurebildung bei Oxydation mit Salpetersäure Galactose, in Apfelpektin durch Hydrolyse Xylose nach. Tromp de Haas erhielt bei der Hydrolyse des Rhabarber-, Aepfel-, Reine-Clauden- und Johannisbeeren-Pektins Pentosen und konnte in einem Pektin aus Steckrüben die Galactose- und die Pentose-Gruppe durch Oxydation bzw. durch Hydrolyse nachweisen. Nach der zusammenfassenden Darstellung Hébert's (1) über die Pektinstoffe haben die Untersuchungen von Bourquelot und anderen auch in Pektinstoffen aus *Gentiana lutea* (Rhizom), Kronenblättern von Rosen, aus Quitten, Hagebutten und Stachelbeeren die Anwesenheit von Pentose- neben Galactose-Gruppen ergeben. Nach Tollens (1) sind die Pektinstoffe celluloseartige Polysaccharide, welche die Carboxylgruppe (COOH) enthalten.

Die Untersuchungen der früheren Forscher haben seither wesentlich nur noch ein historisches Interesse. Das gilt auch von den Untersuchungen Frémy's, der verschiedene isomere Pektinstoffe unterscheidet. Deren Grundsubstanz ist nach ihm die Pektose, ein etwas sehr hypothetischer, nicht dargestellter Körper, der in Wasser sowohl wie in Alkohol und Aether unlöslich ist und erst unter der Einwirkung von Säuren, Alkalien und Enzymen in lösliche Pektinstoffe übergeht. Die Pektose ist im Gewebe der Pflanzen sehr verbreitet, insbesondere in fleischigen Wurzeln, im Rindenparenchym und im Fleisch saftiger Früchte.

Wird das Fruchtfleisch in Wasser gekocht, so geht die Pektose unter dem Einfluß der Fruchtsäuren in wasserlösliches Pektin über. Unter dem Einfluß des Enzyms Pektase, das gleichfalls im Fruchtfleisch vorhanden ist, entsteht weiter aus dem Pektin Pektinsäure. Dieselbe in 5 Wasser unlösliche Säure entsteht unter dem Einfluß von Alkalien und Erdalkalien; Behandlung mit Säuren führt sie in wasserlösliche Metapektinsäure über. Durch längeres Kochen mit Wasser entsteht aus Pektin das isomere Parapektin und aus diesem durch Kochen mit verdünnten Säuren das ebenfalls isomere Metapektin. Substanzen, 10 die sich durch ihr Verhalten gegenüber Bleiacetat und Baryumchlorid untereinander und von dem Pektin unterscheiden.

Die rein hypothetische Natur dieser Ergebnisse, zu denen Frémy kam, und die dringend der Nachprüfung bedürfen, ist bereits hervorgehoben worden. Dasselbe gilt übrigens von den weiteren Folgerungen, 15 die Frémy aus seinen vermeintlichen Feststellungen zog. Nach ihm geht bei der fortschreitenden Reife der saftigen Früchte die Pektose unter dem Einfluß der Fruchtsäuren, bzw. der in den Früchten vorhandenen Pektase, zunächst in Pektin, dann in Pektinsäure, Metapektin und Metapektinsäure über. Auf einer ähnlichen Umwandlung der Pektose beruht 20 nach Frémy auch das Gelatinieren eingekochter Fruchtsäfte (Gelés). Beim Kochen der Früchte entsteht zunächst Pektin, und dieses geht unter dem Einfluß der Pektase, die Frémy aus dem Saft des Zentralzylinders von Karotten durch Alkoholfällung darstellte, in Säuren, zunächst Pektosin-, später Pektinsäure, über, welche in kaltem Wasser un- 25 löslich sind, sich gelatineartig abscheiden. Bei verlängertem Kochen entstehen aus der Pektinsäure neue wasserlösliche Säuren (Parapektin- und Metapektinsäure), und damit verliert der Saft wieder das Erstarrungsvermögen. Nach Frémy ist die Pektase der süßen Früchte (Aepfel, Birnen usw.) in Wasser unlöslich. Deren Säfte lassen sich da- 30 her nur in Gegenwart der Fruchttrester zu Gelé verarbeiten.

Wie man sieht, handelt es sich bei Frémy's Pektase um ein Enzym gar eigner Art, das sogar Sieden in Wasser gut verträgt, und diese Ueberlegung genügt wohl schon, um die Berechtigung einiger Zweifel an dem Dasein dieses koagulierenden Enzyms zu beweisen. Die neueren 35 Untersuchungen, soweit überhaupt solche vorliegen, weisen denn auch auf die Ueberprüfungsbedürftigkeit der eben mitgeteilten, von Duclaux (1) im wesentlichen übernommenen Anschauungen hin. Während Frémy bei seinen meist mit Karottensaft angestellten Untersuchungen Kalkverbindungen durch Oxalsäurezusatz sicher ausgeschlossen zu haben 40 glaubte, schreiben Bertrand und Mallèvre (1) den Erdalkalien eine Hauptrolle bei dem Gelatinieren zu: Dieses soll nur bei Gegenwart von Calcium, Baryum oder Strontium eintreten und wesentlich in der Bildung von Erdalkalipektat, unter natürlichen Verhältnissen Calciumpektat, bestehen. Mit sicher entkalkten Präparaten, Pektinlösung und Pektase- 45 lösung aus Karotten, erhielten sie keine Ausscheidung, wohl aber, wenn ein Kalksalz zugesetzt wurde. Daneben spielt allerdings auch bei Bertrand und Mallèvre (2) die Pektase noch ihre Rolle. Sie ist ebenfalls zum Zustandekommen der Koagulation notwendig, wirkt aber nur in neutraler Lösung. Säuren hemmen schon in ziemlich geringer Menge 50 die Tätigkeit der Pektase, woher es kommt, daß die Säfte mancher säurereichen Früchte nicht gelatinieren. Irrig ist die Anschauung Frémy's, daß die Pektase mancher Früchte, z. B. unreifer Aepfel, unlöslich in Wasser sei. Die Beobachtungen Frémy's über die Wirkung der

Trester solcher Früchte erklären sich dadurch, daß die Pektase, wie alle Enzyme, gern fest an unlöslichen Körpern haftet. Die Pektase, die FRÉMY in Karotten, Rüben, Aepfeln und Birnen gefunden hatte, fanden BERTRAND und MALLÈVRE (3) im Pflanzenreich sehr verbreitet: Mit negativem Ergebnis wurde nur *Pinus laricio* untersucht, während alle anderen 5 daraufhin geprüften Pflanzen, darunter auch Farne, *Marchantia, Chara, Spirogyra*, sich pektasehaltig erwiesen. Auch die wässerige Lösung des Pektins der Stachelbeeren gerinnt nach BOURQUELOT und HÉRISSEY (2) bei Zusatz eines (pektasehaltigen) Wasserauszuges von Karotten oder Luzernekeimlingen, aber auch bei Zusatz von Salzen der Erdalkalien. 10 BOURQUELOT (1) hält diese Koagulation durch Pektase für ein Kennmerkmal der Pektinkörper. Nach GAYAND (1) soll allerdings wieder die Bildung von Pektinsäure aus Pektin allein unter dem Einfluß der Pektase erfolgen und das Calcium eine Rolle bei der Gerinnung der Fruchtsäfte nicht spielen. CARLES (1) findet, daß die Pektase, wie andere Enzyme, 15 in wässeriger Lösung durch Erhitzen sofort getötet wird. Beim Gelatinieren von Fruchtsäften kann ihre koagulierende Wirkung also eine Rolle nicht spielen, und die Bildung der gelatinierenden Substanzen ist allein auf die Wirkung des Wassers und der Fruchtsäuren auf das Pektin, kombiniert mit der der Hitze, zurückzuführen. 20

Ueber die Verbreitung der Pektinkörper der Pflanzen hat MANGIN eingehende Untersuchungen angestellt, die er (2) in den Jahren 1892 und 1893 zusammengefaßt hat. Danach bildet die Pektose in inniger Vereinigung mit Cellulose die Membran der jugendlichen Gewebe (Meristeme), findet sich aber auch in den Zellmembranen des 25 Parenchyms, des Weichbastes, der Epidermis und des Collenchyms. Die Pektinsäure bildet meist, in Form ihres Kalksalzes, die Mittellamellen (Intercellularsubstanz) der parenchymatischen, lebenden Gewebe, soweit sie nicht verholzt sind. Nach DEVAUX (1) ist die letztere Ansicht allerdings unrichtig und werden die Parenchymzellen der 30 Rinde usw. durch Pektose verklebt. Jedenfalls besteht die Intercellularsubstanz der parenchymatischen Gewebe im allgemeinen aus einem unlöslichen Pektinstoff, der nach Behandlung mit verdünnten Säuren (Salzsäure u. dgl.) in Alkalien löslich wird.

Nachdem die Zugehörigkeit der Pektinkörper zu den Kohlenhydraten 35 durch die Elementaranalyse und die Spaltungsprodukte bewiesen ist, trennt sie zunächst nichts von den sog. Pflanzenschleimen und Gummiarten, welche teils in löslicher Form, als Zellinhaltsbestandteile, teils in unlöslichem Zustande, als Bestandteile der Membranen, weit verbreitet sind. Dahin gehören der Schleim der Orchideenknollen und die Substanz der Zellwand- 40 verdickungen in vielen Endospermen (Palmen, Strychnos, Leguminosen). Als Spaltungsprodukte dieser Kohlenhydrate (Mannogalactane) entstehen bei Hydrolyse mit Säuren die Zuckerarten Mannose und Galactose. Jene dienen als Reservestoffe und werden aktiviert, in die einfacheren Zuckerarten durch Enzyme gespalten, welche in den Mannogalactane führenden 45 Pflanzen vorhanden sind, aber auch von einigen Schimmelpilzen, besonders *Aspergillus niger* und *A. fuscus*, gebildet werden und z. B. auch im Gerstenmalz nicht fehlen. Bezüglich der nicht hierher gehörigen Einzelheiten sei auf die jüngste zusammenfassende Darstellung von HÉRISSEY (1) verwiesen. Nach SAWAMURA (1) wird fast reines Mannan 50 aus den Wurzeln von *Conophallus konyaku* und Pflanzenschleim aus *Hydrangea paniculata*, der neben Mannan auch Araban und Galactan enthält, durch den *Bacillus mesentericus vulgatus* aufgelöst, hydrolysiert.

Nach dem Vorgange von REISS faßt HÉRISSEY die Enzyme, welche Mannogalactane, bzw. Mannane und Galactane spalten, unter dem Namen Seminase zusammen. Auch das im gärungsphysiologischen Laboratorium unentbehrliche Agar-Agar gehört hierher. GRAN (1) hat in Meerwasser einen *Bacillus gelaticus* gefunden, der ein Enzym, Gelase, bildet, welches den Hauptbestandteil des Agars, die Gelose, ein Galactosederivat, auflöst und hydrolysiert. Für die entsprechenden Derivate der Pentosen, die Pentosane, welche ebenfalls den Pektinstoffen nahe stehen, sind die betreffenden Verhältnisse noch nicht genügend studiert. SCHÖNE und TOLLENS (1) fanden eine Verminderung derselben bei der Keimung von Gerste, Weizen und Erbsen nicht.

Wie den Mannanen und Galactanen, so entsprechen auch den Pektinkörpern spezifische lösende (hydrolysierende) Enzyme, die BOURQUELOT und HÉRISSEY unter dem Namen Pektinasen zusammenfassen. Ein solches Enzym fanden BOURQUELOT und HÉRISSEY (1) zunächst im Gerstenmalz: Eine Lösung des durch Alkoholfällung aus wässerigem Malzextrakt erhaltenen Enzymgemisches verhinderte die Koagulation einer Pektinlösung, die durch Auskochen von Enzianwurzeln bei 110° im Autoklaven erhalten war, durch Pektase-Lösung (frischen Karottensaft). Durch Aufkochen verlor der Malzextrakt diese Wirkung. Bei der Einwirkung der Malzenzyme auf Gentiana-Pektin entstanden Körper, welche FEHLINGsche Lösung reduzieren, wahrscheinlich Zucker. Die Enzymgemische des Speichels sowie des *Aspergillus niger* waren ohne Wirkung. Es findet sich also wahrscheinlich im Gerstenmalz neben anderen ein spezifisches Enzym, das nur auf Pektin wirkt. Aehnlich verhält sich auch das Pektin der Stachelbeere nach BOURQUELOT und HÉRISSEY (2) gegenüber dem Enzymgemisch aus Malz einerseits und aus *Aspergillus niger* andrerseits.

Die Auflösung der Pektinkörper durch Mikroorganismen spielt nach dem, was wir über ihre Verbreitung wissen, überall dort eine Rolle, wo es sich um die Verwesung und Zersetzung von Pflanzenkörpern handelt. Näher werden wir im Nachstehenden auf die Rolle einzugehen haben, welche die Zerstörung der Pektinkörper durch Mikroorganismen bei der technischen Aufbereitung vieler Gespinnstfasern, insbesondere der Flachs- und Hanffaser, spielt, und auf die Mikroorganismen, welche diese Tätigkeit in der Natur ausüben.

§ 78. Die Gewinnung der Gespinnstfasern im allgemeinen.

Als Textilfasern werden teils Haargebilde, teils im Innern der Gewebe verlaufende Faserbündel von Pflanzen verwertet. Bei den ersteren, zu denen die weitaus wichtigste Textilfaser, die Baumwolle, gehört, ist die Gewinnung leicht: sie werden rein mechanisch von den sie tragenden Pflanzenteilen abgerissen und sind so sofort fertig zur weiteren Verarbeitung. Die Faserbündel dagegen müssen aus dem Gewebeverband mit anderen Zellen (s. *Fig. 38* auf S. 262) erst befreit werden, ehe sie weiter verarbeitet werden können. Nur in seltenen Fällen geschieht das auf mechanischem Wege, z. B. beim Mauritiushanf, der Faser des fleischigen Blattes von *Fourcroya gigantea*, und beim Manilahanf der *Musa textilis*, wo das Parenchym durch Schaben entfernt wird. In den weitaus meisten Fällen, insbesondere auch bei den meisten technisch benutzten Bastfasern dikotyler Pflanzen (Flachs, Hanf, Jute usw.), wird

die Isolierung der Faser im allgemeinen durch einen Gärungsvorgang, die sog. **Rotte** (Rötze oder Röste), erreicht.

Je nach dem Ursprunge der Feuchtigkeit, welche zur Einleitung und Vollendung des Prozesses notwendig ist, unterscheidet man bei den bei uns gebauten Faserpflanzen eine Landrotte und eine Wasserrotte. Bei der Wasserrotte wird die Faserpflanze direkt in stehendes oder langsam fließendes Wasser gelegt, bei der Landrotte dagegen auf Aecker oder Wiesen, so daß Regen und Tau die nötige Feuchtigkeit liefern müssen. Dementsprechend verläuft die Landrotte im allgemeinen langsamer als die Wasserrotte. Je nachdem die Landrotte in der guten Jahreszeit (Herbst, Frühjahr) oder in der kälteren Periode (Winter) vorgenommen wird, unterscheidet man noch Taurotte und Winterlandrotte, welch letztere natürlich entsprechend der niederen Temperatur, die bei ihr herrscht, besonders langsam verläuft. Als gemischte Rotte bezeichnet man ein Rottverfahren, bei welchem man den Flachs bzw. Hanf zunächst der Wasserrotte unterwirft, vor Beendigung derselben aber herausnimmt und zur endgültigen Isolierung der Fasern noch der langsamer fortschreitenden Taurotte aussetzt. Bei der Bereitung der Jute (*Corchorus capsularis*) wird nach Schulte im Hofe (1) die Wasserrotte angewendet.

Von den sog. künstlichen Rottverfahren unterscheidet sich ein Teil nicht von der natürlichen Wasserrotte. Zu diesen gehört die Schenck'sche Warmwasserrotte, bei welcher der Verlauf der Wasserrotte durch künstliche Erwärmung des Wassers auf 30—32° C beschleunigt wird, ferner die Rottverfahren von Terwangue und von Blet, von denen der erstere durch Zusatz von Alkalisalzen, der zweite durch Zusatz von Harnstoff zum Wasser die Wasserrotte zu verbessern suchte. Auch durch Zusatz von Schlamm (Schlammrotte), Erlenblättern u. dgl. dürfte der Charakter der Rotte kaum verändert werden. Auf wirklich künstliche Rottverfahren (Baur'sche Rotte, Kochen mit Alkalien, Seife u. dgl.) werden wir im nachfolgenden zurückkommen. Wer sich näher für die Rottverfahren interessiert, sei auf die einschlägigen Werke von Pfuhl (1), H. Müller (1) und Richard (1) hingewiesen.

Daß das Wesen der natürlichen Rotte in einer Gärung besteht, hat man sehr frühzeitig erkannt. Schon 1852 wird in den „Mitteilungen zur Beförderung des Flachs- und Hanfbaues in Preußen“ (Lieferung II, Berlin 1852, S. 120) die Flachsrotte „ein technischer Gärungsprozeß“ genannt und mit der alkoholischen Gärung und dem Aufgehen des Brotteiges verglichen. Ebenso nennt Hodges (1) die Schenck'sche Warmwasserrotte einen Gärungsprozeß. Und nach Allmann (1) entwickelt sich in der Brühe der Warmwasserrotte „ein besonderer Gärungspilz, welcher in hohem Grade den Eintritt der Gärung in den frisch angesetzten Röstkufen beschleunigt“; neuen Röstkufen fehlt dieser Pilz noch, der in alten stets vorhanden ist, und so erklärt sich die Erfahrung, daß in neuen Röstkufen die Gärung immer später eintritt als in alten, schon benutzten. Auch Wiesner (1, S. 363), nach dem das Wesen der Rotte darin besteht, „die Intercellularsubstanz im Bastgewebe teilweise, jenen Anteil der Intercellularsubstanz hingegen, welcher das Bastgewebe mit den nach außen und innen sich anschließenden Geweben verbindet, gänzlich zu lösen“, nimmt an, daß Fermentorganismen hefe- oder bakterienartiger Natur oder in Gestalt von Fadenpilzen die eigentlich wirksamen Agentien der Rotte sind. Taugerottete Flachssorten fand er stark von Pilzmycelien durchsetzt. Daß bei Ausschluß der Gärungs-

organismen die Rotte ausbleibt, haben dann neuerdings alle, die sich mit der Rotte vom biologischen Standpunkte aus beschäftigten, sowohl für die verschiedenen Landrotten wie für die Wasserrotte gezeigt. Der Ausschluß geschah bei diesen Versuchen teils durch Sterilisieren mittels Hitze, teils durch Zusatz von Desinficientien (Chloroform u. dgl.).

Die Vereinzelung der Faserbündel, der technisch benutzten Faser, kann, vom rein theoretischen Standpunkte aus betrachtet, auf zweierlei Weise zustande kommen: Entweder wird die gesamte Rinde der Faserpflanze mit alleiniger Ausnahme der Fasern aufgelöst, oder aber es wird nur jene Substanz aufgelöst, welche die Faserbündel mit den umgebenden Elementen der Rinde und diese selbst untereinander verkittet, die Intercellularsubstanz, welche, wie wir im vorhergehenden Paragraphen gesehen haben, aus einer Pektinverbindung besteht. Nach der ersten Anschauung, welche VAN TIEGHEM (1, 2) vertrat, müßte das Wesen der Röste in einer Auflösung der Cellulosewände des Rindenparenchyms, also in einer Cellulosegärung, bestehen, was schon deswegen unwahrscheinlich ist, weil die zu isolierenden Bastfasern selbst aus Cellulose bestehen, bei einer solchen Gärung also voraussichtlich selbst Schaden leiden müßten. Ganz unhaltbar aber erscheint die Anschauung VAN TIEGHEM's, nachdem eine künstliche Rotte, die BAUR'sche Rotte (D.R.P. 68807; vgl. PFUHL [3]), nichts weiter ist als eine Auflösung der Intercellularsubstanz durch chemische Agentien, wie sie auch in der botanischen Mikrotechnik zur Lösung des pektinsauren Kalks bzw. der Mittellamelle, seit MANGIN angewendet werden: Die Faserpflanzen werden zunächst mit mineralischen Säuren (Salz- bzw. Schwefelsäure), welche der Pektinsäure den Kalk entziehen, dann mit Alkalien, welche die Pektinsäure in wasserlösliche Alkalipektate verwandeln, behandelt. Die Bastfaserstränge zerfallen bei dieser Behandlung, welche die umgebenden Zellen des Rinden- und Phloem-Parenchyms voneinander und von den Faserbündeln trennt, darum nicht in die Einzelfasern, weil ihre Mittellamelle, wie bereits HAVENSTEIN (1), VON HÖHNEL (1) sowie BRIOSI und TOGNINI (1) fanden und BEHRENS (2) sowie STÖRMER (2) bestätigten, in der chemischen Zusammensetzung von der des Rindenparenchyms abweicht, die Reaktionen verholzter Membranen gibt. Andere künstliche Rotten bestehen im Kochen der Faserpflanzen mit Alkalien (Soda, Seife), wodurch ebenfalls nur Mittellamellensubstanz aufgelöst, nicht aber Cellulose angegriffen wird. Ein noch direkterer Beweis wird dadurch geliefert, daß die bei der Rotte wirksamen Bakterien, wie wir im folgenden Paragraphen sehen werden, wohl Pektinsubstanzen, nicht aber Cellulose anzugreifen vermögen. Endlich hat OMELIANSKI (1) neuerdings (s. S. 262) gezeigt, daß die von ihm studierten celluloselösenden Bakterien keineswegs zur Isolierung der Faserbündel des Flachses benutzbar sind, sondern diese gleichzeitig mit den anderen Cellulosemembranen der Rinde zerstören (*Fig. 40*). Damit ist zweifellos festgestellt, daß die Intercellularsubstanz identisch mit jenen „cementing matters" ist, in deren Auflösung nach ROYLE (1) das Wesen der Rotte besteht, und ist die Anschauung KOLB's (1), nach der die natürlichen Rotten in einer Gärung der Pektinsubstanzen bestehen, fest begründet. KOLB glaubte, daß bei der Rotte die Kittsubstanz der Faserstränge, welche er mit der FRÉMY'schen Pektose identifizierte, in Pektinsäure übergehe, die teils als solche, teils als Ammonsalz auf der Faser fixiert werde. Später scheint er nach den Angaben MANGIN's (1), der sich ihm anschließt, einen Uebergang der Pektose besonders in lösliche Metapektinsäure angenommen

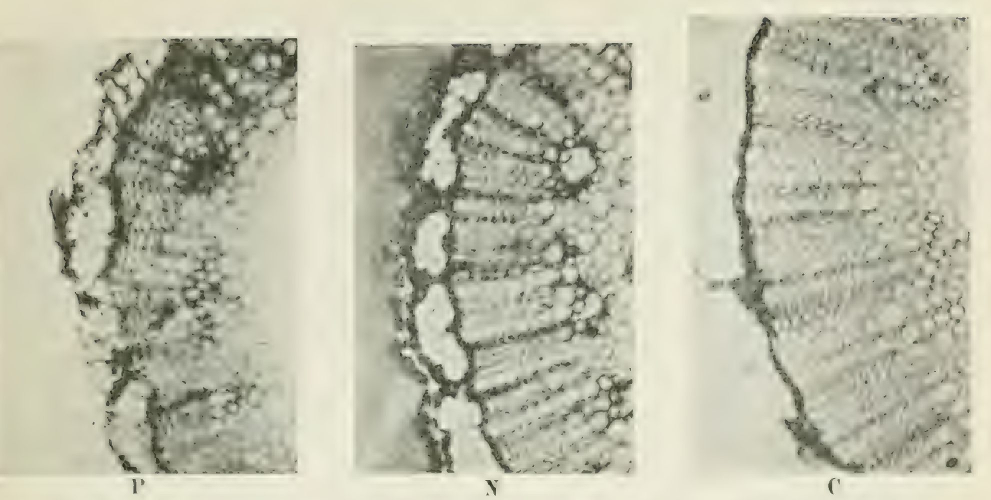


Fig. 40. Veränderung des Flachsstengels durch die Pektingärung einerseits und die Cellulosegärung andrerseits.
N, Querschnitt durch einen Stengel in natürlichem Zustande.
P, Querschnitt durch einen Stengel nach Vollendung der Rotte mittels einer Reinzucht von Fribes' Rottebazillus.
C, Querschnitt durch einen Stengel, welcher der Cellulosegärung mittels des Bazillus der Methangärung unterworfen worden war.
Färbung mit Biondi's Dreifarbengemisch, zur Hälfte mit Glycerin verdünnt. — Vergr. 125. Nach Omelianski.

zu haben, die er in der Rotteflüssigkeit von Hanf, und die nach ihm auch Mangin in Flüssigkeiten, in denen Pflanzenteile faulten, gefunden haben will. Auch Marmier (1) sieht das Wesen der Röste in einer Umwandlung der Pektose der Membranen in Pektinsäure, und zwar soll nach ihm sonderbarerweise deren unlösliches Kalksalz entstehen. Dagegen fand Störmer (2) die Rotteflüssigkeit von Flachs jederzeit frei von Pektin- bzw. Metapektinsäure oder deren Salzen. Als Produkte der natürlichen Wasserrotte des Flachses fand dagegen schon Hodges (1) Kohlendioxyd, Wasserstoff, Butter- und Essigsäure. Auf die Gärungsprodukte der eigentlichen Erreger der Rotte wird im folgenden Paragraphen einzugehen sein.

§ 79. Die Organismen, welche die Rotte bewirken.

Diejenige natürliche Rotte, welche man bisher am eingehendsten untersucht hat, ist die Wasserrotte, während über die Landrotten nur wenige Mitteilungen vorliegen. Es ist aber von vornherein zu erwarten, daß bei den verschiedenen Arten der Rotte, entsprechend den durchaus verschiedenen Bedingungen, auch verschiedene Organismen tätig sein werden, zumal längst feststeht, daß eine große Anzahl verschiedener Organismen das Vermögen besitzen, Intercellularsubstanz (pektinsauren Kalk) aufzulösen.

Am weitesten geht zweifellos in dieser Beziehung Hauman (1), der bei seinen Untersuchungen über die Taurotte, deren Ergebnisse aber für die Theorie der Wasserrotte, wenn richtig, ebenso wichtig sein

würden, zu dem Ergebnis kam, daß die Rotte, zunächst des Flachses, keineswegs das Werk eines oder einiger weniger spezifischer Organismen sei, sondern daß vielmehr alle gewöhnlichen Bakterien und Pilze der Luft und des Bodens imstande seien, die Rotte durchzuführen, so von Eumyceten *Sclerotinia libertiana*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum*, *Mucor mucedo*, *Cladosporium herbarum*, *Streptothrix Foersteri*, von Schizomyceten *Bacillus coli communis*, *B. mesentericus*, *B. subtilis*, *B. mycoides*, *B. fluorescens liquefaciens*, *Bacterium termo*, *Micrococcus roseus*. Alle diese Organismen vermögen, nach Hauman, Flachs zu rotten, und unterscheiden sich in dieser Beziehung nur quantitativ. Besonders energisch rotten die Fadenpilze; von den Bakterien rottet der *Bacillus fluorescens liquefaciens* am kräftigsten, der *Micrococcus roseus* am trägsten. Nach Hauman besitzen also alle darauf hin geprüften Organismen die Fähigkeit, Mittellamellensubstanz (Calciumpektinat) in Lösung überzuführen, aber in verschiedenem Grade. Selbst wenn Hauman's Anschauungen richtig wären, bliebe dabei doch noch die Frage zu beantworten, welche Organismen denn eigentlich in der Natur bei den verschiedenen Arten der natürlichen Rotte auftreten und sie bewirken.

Mit den Ergebnissen der Untersuchungen von Hauman stehen aber die der früheren und der späteren Erforscher des Rottevorganges insofern im Widerspruch, als diese nur bei Anwesenheit ganz bestimmter Organismen das Zustandekommen der Rotte beobachteten. Behrens (3) konnte denn auch bei Wiederholung der Versuche von Hauman mit Reinzuchten von *Bacillus fluorescens liquefaciens*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. coli communis*, *B. mesentericus vulgatus* und *B. m. fuscus* keine bzw. nur ganz ungenügende Rotte erzielen. Dasselbe bestätigen Beijerinck und van Delden (1) für allerlei hefenähnliche Pilze (*Mycoderma*, *Torula*, *Oidium*) sowie für Arten der Beijerinck'schen Gattung *Aerobacter* (*Bacillus coli*, *B. aerogenes*), während sie allerdings mit *Bacillus subtilis* und *B. mesentericus* Flachs rotten konnten. Wahrscheinlich ist Hauman, der den von ihm verwendeten Flachs bei 110° C trocken sterilisierte, dadurch zu einer irrigen Deutung seiner Versuchsergebnisse geführt worden, daß dem Material anhaftende Sporen spezifischer Rotteerreger die Sterilisation überlebten und nachher sich neben den eingeimpften Organismen entwickelten. Wenigstens wurden in Behrens' Versuchen die den trockenen Stengeln von Flachs und Hanf anhaftenden Keime der Rotteerreger durch dreistündiges Erhitzen auf 110° keineswegs vernichtet.

Das Vermögen, die Kittsubstanz der Zellen (Intercellularsubstanz) in Lösung zu bringen, ist aber keineswegs Alleingut eines einzigen oder einiger weniger Mikroorganismen. Vielmehr ist es sicher weit verbreitet. Bei der Fäulnis des Obstes, der Kartoffeln, der Möhren usw. sind Organismen, Pilze und Bakterien, tätig, welche nach der ganzen Art der Veränderungen, die sie in dem Substrat hervorrufen, unbedingt die Fähigkeit zur Lösung von Intercellularsubstanz besitzen müssen, für welche zum Teil bereits diese Fähigkeit auch in Reinzuchten nachgewiesen worden ist, so durch Kramer (1), Jensen (1), Behrens (1). Mit dem *Bacillus asterosporus* (A. Meyer) Mig., der nach A. Meyer (1) die Intercellularsubstanz von Möhren vergärt, vermochte Behrens (3) in Reinzuchten Hanf und Flachs vortrefflich zu rotten. Die Frage, welche Organismen bei der natürlichen Rotte der Textilpflanzen tätig sind, ist aber mit dem Nachweis, daß gewisse, mehr oder minder zahl-

reiche Organismen die Intercellularsubstanz, sei es auch von Flachs oder von Hanf, zu vergären oder aufzulösen vermögen, nicht gelöst, sondern verlangt eine direkte Bearbeitung.

In der Natur stellt sich da, wo man Textilpflanzen bei genügender Feuchtigkeit sich selbst überläßt, die Rotte spontan ein. Es erklärt sich das dadurch, daß nach FRIBES (cit. bei WINOGRADSKY [1]) und BEHRENS (2) die Keime der Rotteerreger den Textilpflanzen stets ansitzen, ähnlich wie die Hefe den Traubenbeeren. Zweifellos sind sie aus dem Boden dahin gelangt. Dabei bleibt allerdings unaufgeklärt, wie sie dahin gelangen, und wie es kommt, daß sie sich auf der Epidermis der Textilpflanzen regelmäßig und anscheinend in großer Zahl einfinden.

Die ersten bestimmten Angaben über den Erreger der Textilpflanzenrotte, und zwar der Wasserrotte, machte im Jahre 1879 VAN TIEGHEM (2). Nach ihm beruht dieser Vorgang auf der Wirkung des *Bacillus amylobacter*, eines anaerobiotischen, endosporenbildenden Bazillus (s. Bd. I, S. 107 u. 282, u. Bd. III, S. 248), der überall auftritt, wo pflanzliches Gewebe fault. Kurze Zeit darauf identifiziert VAN TIEGHEM (3) seinen *Bacillus amylobacter* mit dem „*Vibrion butyrique*", dem Buttersäurebazillus PASTEUR's, und danach würde derselbe auch identisch sein mit dem *Clostridium butyricum* PRAŹMOWSKI's (1, 2). Nach VAN TIEGHEM löst und vergärt der *Bacillus amylobacter* sämtliche Cellulose in der Rinde der Textilpflanzen bis auf die widerstandskräftigere Cellulose der Bastfasern. Die Anschauung von der Rolle des *Bacillus amylobacter* bzw. *Clostridium butyricum* bei der Rotte wurde herrschend und von den Technologen, z. B. PFUHL (2, 3), übernommen und wurde insofern bestätigt, als auch VAN SENUS (1) in und zwischen den Rindenparenchymzellen rottenden Flachses mit Jod blau werdende *Amylobacter*-Gestalten in großer Anzahl vorfand und den von A. KOCH (1) bestätigten Nachweis lieferte, daß der *Bacillus amylobacter*, wenn er auch Cellulose in Reinzucht nicht anzugreifen vermag, doch die Zellen der verschiedensten Gewebe voneinander trennt, also die Mittellamellen auflöst.

Die Untersuchungen von BEHRENS (2) über die **Wasserrotte des Hanfes** haben ebenfalls in einem *Clostridium* den Erreger dieses letzteren Vorganges gefunden, wenn natürlich auch dessen Identität mit dem selbst der Revision bedürftigen *Clostridium butyricum* PRAŹMOWSKI's weder erwiesen noch überhaupt wahrscheinlich ist. Das von BEHRENS aufgefundene *Clostridium* löste und vergärte die Mittellamellensubstanz des Hanfes, welche bei der Oxydation mit Salpetersäure Schleimsäure liefert, also ein Galactosederivat ist. Ebenso vergärte das *Clostridium* unter reichlicher Gasbildung Glucose, Lävulose, Rohrzucker, der vorher invertiert wird, Galactose, Milchzucker, Kartoffel- und Reisstärke, ist dagegen ohne Einwirkung auf Xylose, Arabinose, arabisches Gummi, Quittenschleim, Cellulose und Calciumlactat. Erforderlich ist die Anwesenheit von Pepton oder Eiweißstoffen als Stickstoffquelle. Ammoniaksalze genügten als Stickstoffquelle nicht. Das *Clostridium* des Hanfes ist ein obligat anaerobiotischer, beweglicher Stäbchenbazillus mit abgerundeten Enden, dessen Schwärmer nach einiger Zeit zur Ruhe kommen und dann kurze Ketten von 2 bis 6 Gliedern bilden können. Zur Sporenbildung schwellen die Stäbchen spindelförmig an. Die ellipsoidische Spore, die im reifen Zustande, lebend in Wasser gemessen, $1 \times 1{,}5\ \mu$ mißt, liegt in der Mitte oder aber dem einen Ende mehr genähert. Der Inhalt des sporenführenden Stäbchens färbt sich mit

Ausnahme der Spore selbst bei Behandlung mit Jod-Jodkaliumlösung blau. Während Hanf von dem *Clostridium* leicht und gut gerottet wurde, war dessen Einwirkung auf Flachs, dessen Mittellamellensubstanz bei der Hydrolyse außer Galactose auch Pentosen liefert, weniger vollkommen. 5 STÖRMER (2) gibt neuerdings an, daß ihm auch im Hanfpektin der Nachweis von Pentosegruppen gelungen ist. Dagegen würden die Untersuchungen SAMOGGIA's (1) über das Schicksal der Pentosane bei der Hanfröste mit BEHRENS' Befund übereinstimmen. Nach SAMOGGIA bleibt nämlich der Gehalt des Hanfes an Pentosanen bei der Rotte unverändert.

10 Die **Wasserrotte des Flachses** wurde zunächst von FRIBES in WINOGRADSKY's Laboratorium einer systematischen Untersuchung mit Hilfe der bakteriologischen Methoden unterworfen. Ueber die Ergebnisse, zu denen FRIBES kam, liegt bisher leider nur eine vorläufige Mitteilung WINOGRADSKY's (1) aus dem Jahre 1895 vor. Danach ist bei der Wasser- 15 rotte des Flachses ein spezifischer anaerobiotischer, ziemlich großer Bazillus wirksam, der in endständigen Anschwellungen Endosporen bildet, und der außer Pektinsubstanzen auch Glucose und Stärke vergärt, aber Cellulose und arabisches Gummi nicht angreift. Seine Reinzüchtung gelang auf Kartoffelscheiben. Eine besondere Anpassung an Pektin- 20 substanzen würde bei diesem Bazillus der Flachsrotte insofern festzustellen sein, als er solche bei Zusatz von Ammoniaksalzen als Stickstoffquelle vergären soll, während er Zucker und Stärke nur bei Ernährung mit Pepton angreift. Möglicherweise waren allerdings die verwendeten, aus Flachs, Birnen, Karotten und weißen Rüben dargestellten Pektin- 25 präparate nicht ganz frei von organischen Stickstoffverbindungen (Eiweiß, Nuclein), so daß diese und nicht die Ammoniaksalze bei den Versuchen von FRIBES die Stickstoffquelle gebildet hätten. Unterwarf dieser Forscher Flachsstengel oder Teile von weißen Rüben, nachdem sie zunächst mit Wasser, dann mit verdünnten Säuren und Alkalien ausgezogen 30 worden waren, der Gärung mit dem von ihm gezüchteten Bazillus der Flachsrotte, so entsprach der Gewichtsverlust bei der Gärung ziemlich genau dem Gehalt der Objekte an Pektinsubstanzen vor der Gärung.

Im Gegensatz zu FRIBES kam MARMIER (1) im Jahre 1899 zu dem Ergebnis, daß die bei der Flachsrotte beteiligten Mikroorganismen aerob 35 seien, eine Behauptung, welche jedoch von keinem der nachfolgenden Forscher bestätigt wurde. Allerdings geben, wie oben bereits erwähnt, BEIJERINCK und VAN DELDEN (1) an, daß ihnen mit aeroben Organismen (*Bacillus subtilis, B. mesentericus*) die Flachsrotte 40 gelungen sei. Indessen fanden sie als Erreger der technischen Flachsrotte einen dem von WINOGRADSKY und FRIBES aufgefundenen Organismus mindestens sehr ähnlichen, von den Verfassern mit ihm 45 identifizierten Bazillus, den sie *Granulobacter pectinovorum* nennen, und dessen Reinzüchtung ihnen auf mit Kreide versetztem Malzextrakt-Agar bei Sauerstoffabschluß gelang. Der Bazillus, der seine 50 Sporen in endständigen Anschwellungen (*Fig. 41*) bildet, und dessen Inhalt sich zum Teil mit Jod blau färbt, vergärt bei Ernährung mit Pepton, Fleischbouillon oder Ei-



Fig. 41.
Granulobacter pectinovorum.
Vergr. 650. Nach BEIJERINCK und VAN DELDEN.

weiß, das er ebenso wie Gelatine peptonisiert, Glucose, Lävulose, Galactose, Milchzucker und Maltose unter Bildung von wenig Buttersäure. Pektin, aus dem Wurzelstock von *Gentiana lutea* durch Ausziehen der mit Wasser ausgewaschenen Droge mit 3-proz. Salzsäure und Ausfällen dieses Auszuges mit Alkohol dargestellt, wird von *Granulobacter pectinovorum* auch ohne Pepton u. dgl. bei Zusatz von Ammonsalzen vergoren, wie das auch WINOGRADSKY und FRIBES von ihrem Rottebazillus angeben. Wahrscheinlich dürfte dieser Befund, wie zuvor bereits erwähnt, auf irriger Deutung der Beobachtungen infolge eines Gehaltes des Pektinpräparates an Eiweißstoffen beruhen. Die Pektose des Flachses, welche nach den Verfassern die Mittellamellensubstanz des primären Rindenparenchyms und die Wandsubstanz des Weichbastes und des Cambiums bildet, wird von dem Organismus zunächst mittels des von ihm ausgeschiedenen Enzyms **Pektosinase** hydrolysiert und aufgelöst, wobei einfache Zuckerarten (Galactose, Xylose, vielleicht auch Glucose und Arabinose) entstehen. Erst die Spaltungsprodukte werden dann vergoren. Neben dem eigentlichen Erreger der Rotte, dem *Granulobacter pectinovorum*, finden sich bei dem technischen Rotteprozeß noch viele andere Organismen ein, auf welche später zum Teil zurückzukommen sein wird.

Die letzte Untersuchung der Flachsrotte rührt von STÖRMER (2) her und ist im Jahre 1904 ausführlich veröffentlicht worden, nachdem bereits 1903 eine vorläufige Mitteilung aus der Feder desselben Verfassers (1) erschienen war. Auch er fand als Erreger der Flachsrotte einen im sporenführenden Zustande trommelschlägelförmigen Bazillus, den er *Plectridium pectinovorum* nennt, und der sich mit Hilfe einer mit Erbsenwurzelextrakt bereiteten Gelatine in Plattenzuchten verhältnismäßig leicht rein gewinnen ließ, auf solcher sogar bei Luftzutritt wuchs. Der Bazillus speicherte Granulose und zeigte infolgedessen mit wässeriger Jodlösung Blaufärbung. In Traubenzucker- und Arabinose-Lösung wurde allerdings Granulose nicht gespeichert. Zu seinem Gedeihen verlangte der Organismus Stickstoff in Form von Eiweiß oder Albumosen, gleichgültig, welche Kohlenstoffquelle ihm geboten wurde. Asparagin, Ammoniumsalze und Nitrate vermochten seinen Stickstoffbedarf nicht zu decken, auch nicht bei Darbietung von Pektinstoffen. Vergoren wurden von dem Organismus bei Anwesenheit von Pepton alle daraufhin geprüften Pektin- und Pektinsäurepräparate aus Möhren, Serradellasamen, Flachs und Hanf, ferner Reisstärke, lösliche Stärke, Dextrin, Raffinose, Rohrzucker, Maltose, Glucose, Galactose und Arabinose. Einmal unter vielen Versuchen wurde auch Xylose vergoren. Dagegen wurden Cellulose, Glycerin und arabisches Gummi nicht angegriffen. Als Gärungsprodukte entstanden bei der Vergärung von Glucose, Galactose und Arabinose außer Kohlendioxyd und Wasserstoff noch Essigsäure und Buttersäure in wechselnden Mengen, sowie Spuren von Milchsäure, und dieselben Produkte lieferten auch Gärversuche mit Pektinkörpern. Bei Vergärung ausgelaugten Hanfes wurde noch die Bildung von Valeriansäure und Spuren von Bernsteinsäure beobachtet.

Von FRIBES' Bazillus der Flachsrotte und dem damit identischen *Granulobacter pectinovorum* BEIJERINCK's und VAN DELDEN's unterscheidet sich das *Plectridium pectinovorum* STÖRMER's schon durch seine fakultative Anaerobiose sowie durch die Maßverhältnisse der Sporen. Während jene des FRIBES'schen Bazillus $1{,}8 \times 1{,}2\ \mu$ messen, sind die des *Plectridium pectinovorum* stets weit größer: $2{,}5-3 \times 1{,}6-2\ \mu$. Es kann also kein Zweifel sein, daß hier verschiedene Organismen vorliegen, trotzdem

die Größenverhältnisse der Stäbchen — nach Winogradsky-Fribes 10—15 × 0,8 μ, nach Störmer 10—15 × 0,8—1 μ — übereinstimmen, und trotzdem Störmer die Identität seines Organismus mit den von Fribes gefundenen anzunehmen scheint.

Fribes, Beijerinck und van Delden sowie Störmer gingen bei ihren Untersuchungen von praktischen Rotten aus; meist verwendeten sie Material, das in der Lys (Belgien) in den dortigen berühmten Rottanstalten gerottet war oder gerottet wurde. Behrens dagegen machte seine Untersuchungen wesentlich an Hanf, der im Laboratorium gerottet wurde, und überzeugte sich nur nebenbei, daß die Flora der praktischen Rotten mit der seiner künstlichen Versuche im kleinen im wesentlichen übereinstimmte. Störmer fand sein *Plectridium pectinovorum* in rottendem Flachs sowohl belgischer wie sächsischer Rottanstalten.

Außer den eigentlichen Rotteerregern finden sich bei der technischen Wasserrotte natürlich noch viele Begleitorganismen ein, deren Rolle zum Teil vielleicht in einem Schutze der Rotteerreger vor der Einwirkung des Sauerstoffs zu suchen ist. Auch bei dem fakultativ anaerobiotischen *Plectridium pectinovorum* Störmer's soll ja die Vergärung der Pektinstoffe nur bei Sauerstoffabschluß erfolgen, und dementsprechend erhielt Störmer bei Sauerstoffzutritt nur dann Rotte resp. Gärung von Pektinstoffen und anderen Kohlenhydraten, wenn er außer mit dem *Plectridium pectinovorum* noch mit einem oder mehreren der Begleitorganismen beimpfte. Als dazu ganz besonders geeignet erwies sich das auch von Behrens bereits beobachtete *Oidium*, das eine Kahmhaut auf der Rotteflüssigkeit bildet. Auch schädliche Produkte der Gärung werden wohl von den Begleitorganismen zerstört, wie Störmer wenigstens für die Essigsäure feststellen konnte. Als Begleitorganismen des Rotteerregers in natürlichen Rotten stellte Störmer außer den oidiumähnlichen Pilzen noch Hefen, ferner *Bacillus fluorescens liquefaciens*, *Bacillus coli* und andere Stäbchenbakterien fest. Denitrifikation beobachtete Behrens bei der Rotte des nitratreichen Hanfes. Beijerinck und van Delden fanden dieselben Begleiter des Rotteerregers wie Störmer und gehen insbesondere auf das neben dem *Granulobacter pectinovorum* in rottendem Flachs sich anhäufende *Granulobacter urocephalum* ein, das dem ersteren nahe steht, indessen Pektose nur sehr wenig angreift, Glucose, Milch- und Rohrzucker sowie Dextrin aber selbst bei Darbietung von Ammoniumsalzen als Stickstoffquelle vergärt. Wird für stete Erneuerung des Wassers im rottenden Flachs gesorgt, so stellt sich folgende Metabiose ein: Zunächst treten die meisten Begleitorganismen (Milchsäurebakterien usw.) in dem Maße und sobald zurück, wie der Flachs ausgelaugt, seiner löslichen Bestandteile beraubt ist. Es häufen sich die beiden *Granulobacter*-Arten an, welche die unlöslichen Eiweißstoffe der Flachsstengel vermöge ihrer kräftigen tryptischen Wirkung sich anzueignen vermögen. Von ihnen tritt *Granulobacter urocephalum* in den Hintergrund, sobald die Stärke vergoren ist, und es häuft sich jetzt allein das der Pektosegärung aufs beste angepaßte *Granulobacter pectinovorum* an.

Die **Taurotte** ist zunächst von Behrens (2) auf Grund von Laboratoriumsversuchen bei Hanf untersucht worden. Unter den vielen, bei den verschiedenen Arten der Taurotte gefundenen Organismen erwiesen sich einige Mucorineen als befähigt, Pektinkörper zu zersetzen und die Rotte von Hanf sowie auch von Flachs zu bewirken. Bei der bei höherer Temperatur verlaufenden sommerlichen Taurotte wurde der allbekannte und weit verbreitete *Rhizopus nigricans* (*Mucor stolonifer*), bei

der bei niederer Temperatur verlaufenden Winterlandrotte eine von WEHMER (3) näher beschriebene echte Mucorart, *Mucor hiemalis* WEHMER, als Erreger der Rotte erkannt. Indem in betreff der sonstigen Eigenschaften beider Arten auf das 22. Kapitel des IV. Bandes verwiesen sei, möge hier nur hervorgehoben werden, daß beide Mucorineen 5 insofern günstig wirken, als sie, ungleich anderen Fadenpilzen wie *Botrytis, Aspergillus, Cladosporium*, deren Auftreten bei der Landrotte beobachtet wurde, Cellulose nicht angreifen, die Faser also intakt lassen. *Mucor hiemalis* gedeiht, ungleich anderen Mucorineen, noch bei den niederen Temperaturen des Eisschrankes, selbstverständlich weniger 10 üppig als bei Zimmertemperatur, weshalb auch die Rotte bei niederer Temperatur einen sehr langsamen Verlauf aufweist. Daß *Rhizopus nigricans* Pektinstoffe, insbesondere Mittellamellensubstanz, angreift, wurde durch das Gedeihen des Pilzes auf diesem letztgenannten aus roten Rüben sowohl wie aus Flachs und Hanf dargestellten Körper 15 bewiesen, der in einer Lösung von 1 Proz. Ammoniumsulfat und 0,5 Proz. Dikaliumphosphat lag. Der Pilz spaltet zweifellos zunächst den Pektinkörper unter Bildung der einfachen Zuckerarten (Galactose, Pentosen), die er, wie Versuche zeigten, sämtlich zum Aufbau seines Körpers verwenden kann. In der Flüssigkeit von Zuchten auf Pektin- 20 stoffen ließen sich unter Umständen deren Spaltungsprodukte als Stoffe, welche FEHLING's Lösung reduzieren, nachweisen. Dasselbe wie von dem *Rhizopus nigricans* gilt auch von dem *Mucor hiemalis*, der durch höhere Temperaturen (36° und mehr) in der Entwicklung gestört wird.

Neben den beiden Mucorineen fällt bei den Landrotten das Auf- 25 treten des durch seine Dunkelfärbung ausgezeichneten, bereits von WIESNER (1) bei taugerottetem Flachs beobachteten *Cladosporium herbarum* LINK auf, dem HAUMAN (1) anscheinend eine Hauptrolle bei der Landrotte zuschreibt. Dieser Forscher fand auf Flachsstengeln, die durch Taurotte zubereitet waren, eine große Anzahl von Eumyceten 30 und Bakterien, die, wie oben bereits hervorgehoben, sämtlich die Mittellamellensubstanz zu lösen und somit zu rotten vermögen sollen, unter ihnen am häufigsten *Cladosporium herbarum, Bacillus coli communis, B. mesentericus, B. subtilis* und *Streptothrix Foersteri*, daneben noch *Bacillus fluorescens liquefaciens, B. mycoides, B. termo, Micrococcus roseus*, 35 *Penicillium glaucum, Mucor mucedo*. Unter ihnen wirken die Fadenpilze am kräftigsten, greifen aber leider auch die Cellulose, also die Fasersubstanz selbst, an. Glücklicherweise ist diesem Beobachter zufolge der häufigste Fadenpilz der Taurotte, das *Cladosporium herbarum*, in seinem Angriffsvermögen gegenüber der Cellulose der schwächste. Nach den 40 Untersuchungen von BEHRENS (2), der bereits die Einwirkung des *Cladosporium* gegenüber Pektinstoffen sowohl wie gegenüber Cellulose erkannt hatte, ist dieser Pilz jedoch schon infolge seiner geringen Wachstumsintensität am Vorgange der Rotte wenig beteiligt und insofern eher ein Schädling, als er in und zwischen die Einzelfasern der Bastbündel eindringt 45 und durch seine Anwesenheit eine Dunkelfärbung der Faser hervorruft. Der sog. Schwarzhanf, ein Produkt der Taurotte, verdankt seine dunkle Färbung dem Mycel von cladosporiumartigen Pilzen.

Auch nach BEIJERINCK und VAN DELDEN (1) ist die Taurotte das Werk von Schimmelpilzen. Leider befassen sie sich mit diesem Vor- 50 gange darum nicht näher, weil er meist ein minderwertiges Produkt liefert. Dagegen ist STÖRMER (2) geneigt, seinem *Plectridium pectinovorum* eine Anteilnahme auch an der Taurotte des Flachses zuzuschreiben, weil

ihm der Nachweis des *Plectridium* in Flachs gelang, der mittels der Rasenrotte gewonnen worden war. Bei Versuchen über Taurotte, die STEGLICH (1) anstellte, war indes eine Impfung des Flachses mit dem *Plectridium* ohne jeden Einfluß auf den Verlauf der Rotte, während die 5 Wasserrotte durch Zusatz des *Plectridium* beschleunigt wurde. Das spricht keineswegs für die Richtigkeit von STÖRMER's Ansicht.

Wie aus dem Vorhergehenden wohl zu entnehmen sein wird, bietet die biologische Seite der Rotte noch eine große Reihe dankbarer Fragestellungen. Herrscht nicht einmal über die Rotteerreger unserer ge- 10 wöhnlichen Faserpflanzen Uebereinstimmung unter den verschiedenen Forschern, so bietet weiter auch die Rotte exotischer, nicht minder wichtiger Textilpflanzen (Musa textilis, Jute, Ramie usw.) ein sicherlich fruchtbares Arbeitsfeld.

15 § 80. Rotte unter Verwendung von Reinzuchten der Rotteerreger. Störungen des Verlaufes der Rotte. Sonstige Pektingärungen.

Schon bald nachdem die ersten Untersuchungen über die Wasserrotte des Flachses vorlagen, tauchen Bestrebungen auf, die Rotte durch Zusatz des Rotteerregers zu fördern. So berichtet PFUHL (3) über ein in Nordamerika patentiertes Verfahren von ALLISON und PENNINGTON, 20 welches das Rotten von Flachs, Ramie usw. in kürzester Zeit in jedem Wasser und zu jeder Jahreszeit bewirken soll. Es besteht einmal im Zusatz gewisser Salze, welche Kali, Kalk, Magnesia, lösliches Eisen, Mangan, Verbindungen von Stickstoff sowie Phosphorsäure und Kieselsäure enthalten, wie sie sich in der wegen ihres Rotteproduktes be- 25 rühmten Lys und in anderen Wässern, in denen das Rotten mit Erfolg betrieben wird, finden, und welche die Entwicklung und Vermehrung des *Amylobacter*, des Rotteerregers, begünstigen sollen. Falls das Wasser überhaupt nicht Keime des Rotteerregers führte, wären außerdem diese durch eine kleine Menge Wasser zuzufügen, das solche ent- 30 hält, und zwar im Verhältnis 1:100000. PFUHL gibt, allerdings ohne Gewähr, an, daß über sehr günstige Resultate mit diesem Verfahren sowohl bei Flachs wie bei Hanf berichtet werde. Nach der Wiener landwirtschaftlichen Zeitung Nr. 12 von 1899 hat ferner DOUMIER eine Warmwasserrotte unter Zusatz der von ihm selbst gezüchteten Rotte- 35 bazillen erfunden, und endlich hat sich nach der Zeitschrift „Flachs und Leinen“, Jahrgang 1901, Bd. 8, S. 1420 die erste Deutsche Ramie-Gesellschaft in Emmendingen ein Verfahren zur Isolierung der Ramiefaser aus dem Rohbast (Degummierung) patentieren lassen (D.R.P. 115743), das auf einer Rotte des Rohbastes in Wasser unter Zusatz einer bak- 40 terienhaltigen Flüssigkeit beruht. Gewonnen wird diese, indem man Ramieabfälle in Wasser unter Zusatz von Salmiak bei 30° C der spontan eintretenden Gärung überläßt. Der Zusatz der vergorenen, stark alkalischen Flüssigkeit zu dem unter Wasser liegenden Rohbast soll in kürzester Zeit vollkommene Zerstörung der die Elementarfasern ver- 45 kittenden Pektinkörper bewirken.

Handelt es sich in diesen Fällen höchstens um Rohzuchten der Rotteorganismen, so gebührt FRIBES das Verdienst, wirkliche Reinzuchten in die technische Bearbeitung des Flachses eingeführt zu haben. Leider hat er seine Erfahrungen bisher nicht veröffentlicht. Sie sollen 50 durchaus günstig gewesen sein. Nicht dasselbe kann man bisher von

der Einführung des *Plectridium pectinovorum* in die Praxis der Wasserrotte sagen. Wie STEGLICH (1, S. 17) mitteilt, wurde durch Zusatz von Zuchten dieser Art die Dauer der Rotte allerdings von 97 Stunden auf 70 Stunden abgekürzt. „Der Bast ist jedoch bei der Bakterienröste etwas spröde und von geringerem Glanz als bei der Röste 5 ohne Bakterien (= Bakterienzusatz, Ref.), so daß mithin die Qualität desselben beeinträchtigt ist." Das Verfahren bedarf also wohl noch des weiteren Ausbaues.

Nach STÖRMER's (2) eigenen Angaben wurde durch die Anwendung des *Plectridium pectinovorum* nicht nur eine sehr wesentliche Verkürzung 10 der Dauer der Rotte erreicht, sondern auch die Qualität des Rotteproduktes und die Ausbeute günstig beeinflußt. Dabei war allerdings von wesentlicher Bedeutung die gleichzeitig mit dem Zusatz der Reinzucht von *Plectridium* sowie eines ausgewählten Nebenorganismus erfolgende Zugabe von Kalk oder Soda, um die bei der Rotte entstehenden 15 Säuren zu binden. Immerhin ließ sich feststellen, daß auch der Zusatz des *Plectridium* und des Nebenorganismus ohne Kalk- oder Sodagabe bereits den Prozeß begünstigte, nicht aber der Zusatz von *Plectridium* allein. Erst durch Anwendung sowohl der Neutralisation als auch der Impfung nebeneinander wird nach STÖRMER die erstrebte Verbesserung 20 der Rotte erzielt. Nicht ganz in Einklang scheint allerdings der von STÖRMER vorgeschlagene Kalkzusatz mit der allgemeinen Ansicht der Praktiker zu stehen, daß hartes, kalkhaltiges Wasser zum Rotten weniger brauchbar ist als weiches.

Spielt also schon bei STÖRMER die Impfung bei der Verbesserung 25 der Rotte eine etwas sekundäre Rolle, so suchen BEIJERINCK und VAN DELDEN (1) jene überhaupt nicht durch Impfung zu erreichen, sondern dadurch, daß sie die Verhältnisse für eine Anhäufung des *Granulobacter pectinovorum* so günstig als möglich gestalten. Dazu dient außer einer genügend hohen Temperatur, die auf Grund praktischer Er- 30 fahrungen noch näher zu bestimmen ist (25—35° C), insbesondere auch eine stetige allmähliche oder doch zum mindesten eine rechtzeitige einmalige Erneuerung des Wassers, so daß man wenigstens die mit den ausgelaugten wasserlöslichen Bestandteilen des Flachses gesättigte Flüssigkeit nach 24 Stunden entfernt. Es wird dadurch die Entwick- 35 lung der Milchsäure- und der Buttersäurebakterien hintangehalten, dagegen die des eigentlichen Rotteerregers, zunächst allerdings auch des *Granulobacter urocephalum*, gefördert. Empfehlenswert ist es auch, nach dem Ablassen der Auslaugungsflüssigkeit dem Flachs eine gewisse Menge guten, an Keimen des *Granulobacter pectinovorum* reichen Rottewassers 40 aus einer vorhergehenden Rotte zuzusetzen. Bevor man über gutes Rottewasser verfügt, wird man sogar 24 Stunden nach der ersten Erneuerung des Wassers dieses mit Vorteil nochmals durch frisches ersetzen.

Von **Fehlern der Rotte** ist die Dunkelfärbung taugerotteter Fasern 45 durch das Mycel von *Cladosporium* bereits erwähnt worden. Ein anderer Fehler, der besonders bei der Wasserrotte leicht vorkommt, ist das **Ueberrotten** der Textilpflanzen, das darin besteht, daß die Rotte zu lange ausgedehnt worden ist und die Faserstränge in die Einzelfasern zerfallen, weil inzwischen auch die Intercellularsubstanz der Faserstränge 50 mehr oder weniger stark zersetzt worden ist. Das Ueberrotten ist nach OMELIANSKI (1) ein Werk der Rotteerreger selbst, die bei zu langer Dauer des Rottens auch die schwer angreifbare Intercellularsubstanz

der Faserstränge selbst auflösen. Erklärlich wird das durch die Beobachtung STÖRMER's (2), daß auch die mit Reagentien auf Holzstoff die Ligninreaktion gebenden Mittellamellen der Faserstränge Pektinsubstanz enthalten. Um ein gutes Produkt zu erzielen, ist es also notwendig, die Rotte rechtzeitig, nämlich dann, wenn die Faserbündel isoliert sind, und ehe die Kittsubstanz der Fasern angegriffen ist, zu unterbrechen. Nur für die Papierfabrikation ist der Zerfall der Faserstränge in die Einzelfasern erwünscht und sogar notwendig. Heutzutage wird diese Zerlegung künstlich auf chemischem Wege durch Kochen des Rohmaterials (Lumpen u. dgl) mit Alkalien erreicht. Früher verwandte man dazu indessen nach HOYER (1, S. 55) auch häufiger als jetzt einen biologisch noch nicht studierten Gärungsvorgang, den man die in Haufen gesetzten Lumpen durchmachen ließ. Der von HOYER dieser Macerierung zugeschriebene Zweck, den den Hadern anhaftenden Schmutz zu entfernen, ist jedenfalls nicht der einzige: viel wesentlicher für die Papierfabrikation erscheint die durch den Prozeß herbeigeführte Lösung der Einzelfasern aus dem Verbande der Faserbündel.

Daß bei zu langer Dauer der Wasserrotte auch die Bakterien der Cellulosegärung sich entwickeln und Teile der Fasern zerstören können, sei, unter Hinweisung auf OMELIANSKI's Arbeit (1), nur kurz erwähnt.

Es ist bereits im Eingange dieses Kapitels betont worden, daß die Pektingärung überall dort eine Rolle spielt, wo Pflanzenteile verfaulen oder verwesen. Eine unmittelbar in den Interessenkreis des Menschen eingreifende Rolle spielt die Zerstörung von Pektinstoffen unter anderem bei der Fäulnis des Obstes, der Kartoffeln, Rüben und anderer Wurzelfrüchte. Es sei in dieser Beziehung hier auf die einschlägigen Kapitel dieses Handbuches (Bd. II, Kap. 20 und Bd. V, Kap. 3) verwiesen. Daß gewisse pektinvergärende Bodenorganismen die Samen der Hülsenfrüchte (Lupinen, Erbsen, Bohnen usw.) im Boden angreifen und durch Fäulnis zerstören können, darauf hat HILTNER (1) hingewiesen. Auf Böden, welche an derartigen Organismen reich sind, kann dieser Befall zu vollständigen Mißerfolgen mit Leguminosensaaten führen und den Leguminosenbau geradezu in Frage stellen. Nach STÖRMER (2) ist auch das *Plectridium pectinovorum* imstande, die von HILTNER beschriebenen Erscheinungen hervorzurufen. Wir werden auf sie noch im 17. Kapitel dieses Bandes zurückzukommen haben. Pektingärungen spielen jedenfalls auch eine Rolle bei dem sog. HALLE'schen Verfahren (Sauerverfahren) der Bereitung von Weizenstärke und bei dem VÖLKER'schen Rottungsverfahren (s. S. 267) der Kartoffelstärkefabrikation, Verfahren, die von WEHMER (2) vom biologischen Standpunkte aus kurz und ganz allgemein behandelt sind. Bei beiden werden die Zellwände des Weizenendosperms, bzw. der Kartoffelknollen durch einen Gärungsvorgang aufgelöst, und dieser Zersetzung geht jedenfalls ein Zerfall der Zellen durch Auflösung der Mittellamellensubstanz voraus. Weiter verschwinden dann auch die Proteinstoffe des Zellinhalts, so daß nur die Stärkekörner übrig bleiben. Auch bei der auf Java üblichen Bereitung von Speisen aus Sojabohnen mittelst des *Aspergillus Wentii* zufolge WEHMER (1) und aus Erdnüssen mittelst der *Monilia sitophila* (MONT.) SACC. zufolge WENT (1) spielt neben der teilweisen Zersetzung der Eiweißstoffe und der Zellmembranen wohl auch die Zerstörung der Mittellamellen und die infolgedessen eintretende Vereinzelung der Zellen eine Rolle. Man vergleiche darüber das 11. und das 16. Kapitel des IV. Bandes.

Literatur

zum Kapitel Die Pektingärung.

*Allmann, (1) Wagners Jahresbericht ü. d. Fortschritte d. chem. Technologie, 1855, Bd. 1, S. 279. *Bauer, R. W., (1) J. f. prakt. Chem., 1884, Bd. 138, S. 367; Landw. Versuchsstationen, 1892, Bd. 41, S. 477. *Behrens, J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 514. — (2) Ebenda, 1902, Bd. 8, S. 114. — (3) Ebenda, 1903, Bd. 10, S. 524. *Beijerinck, M. W., und van Delden, A., Over de bacterien, welke bij het roten van vlas werkzaam zijn. Kon Ak. v. Wetensch. te Amsterdam. Verslag van de Gewone Vergadering der Wis- en Natuurk. Afd. van 19 Dec. 1903, Deel 12, S. 673. *Bertrand, G., und Mallèvre, A., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1894, Bd. 119, S. 1012. — (2) Ebenda, 1895, Bd. 120, S. 110. — (3) Ebenda, 1895, Bd. 121, S. 726. *Bourquelot, Em., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1899, Bd. 128, S. 1241. *Bourquelot, Em., und Hérissey, H., (1) Compt. rend. de l'Ac., 1898, Bd. 127, S. 191. — (2) Journ. pharm. et chim., 1899, 6. sér., Bd. 9, S. 281. *Braconnot, (1) Ann. de chim. et de phys., 1825, 2. sér. Bd. 28, S. 173. *Briosi, G., und Tognini, Ph., (1) Intorno alla anatomia della canapa (Cannabis sativa L.) II. Organi vegetativi. Milano 1896. *Carles. P., (1) Journ. pharm. et chim., 1900, 6. sér., Bd. 11, S. 463. *Devaux, H., (1) Mém. de la Soc. des Sc. phys. et nat. de Bordeaux, 1903, 6. sér., Bd. 3, S. 89; Bot. Centralbl., 1904, Bd. 96, S. 1. *Duclaux, P., (1) Traité de Microbiologie, II. Paris 1899. *Frémy, (1) Journ. de Pharm., 1840, 2. sér., Bd. 26, S. 368; Ann. de chim. et de phys., 1848, 3. sér., Bd. 24, S. 5. *Gayand, (1) Compt. rend de l'Ac., 1902, Bd. 135, S. 537. *Gran, H. H., (1) Studien über Meeresbakterien II. Bergens Museums Aarbog, 1902, Nr. 2. *Hauman, L., (1) Ann. Pasteur, 1902, Bd. 16, S. 379. *Havenstein, (1) J. f. Landwirtschaft, 1875, Bd. 23, S. 30. *Hébert, H., (1) Annales agron., 1900, Bd. 26, S. 34. *Hérissey, H., (1) Revue générale de Bot., 1903, Bd. 15, Nr. 176/179. *Herzfeld, (1) Ztschr. d. Vereins f. Rübenzuckerind., 1892, S. 295 u. 667. *Hiltner, L., (1) Arb. aus der biol. Abt. f. Land- und Forstwirtsch. am Kais. Ges.-Amt, 1902, Bd. 3, S. 1. *Hodges, J. F., (1) Dinglers Journ., 1856, Bd. 142, S. 306; Wagners Jahresb. ü. d. Fortschr. d. chem. Technologie, 1856, Bd. 2, S. 90. *Höhnel, Fr. von, (1) Mikroskopie der techn. verwendeten Faserstoffe. Wien, Pest, Leipzig 1887. *Hoyer, Egb., (1) Die Fabrikation des Papieres. Braunschweig 1887. *Jensen, Hj., (1) Centralbl. f. Bakt, 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 646. *Koch, A., (1) Kochs Jahresber., 1890, Bd. 1, S. 137. *Kolb, J., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1868, Bd. 66, S. 1024; Wagners Jahresber. ü. d. Leistungen der chem. Technol. f. 1868, Bd. 14, S. 611. *Kramer, E., (1) Oesterr. landw. Centralbl., 1891, Heft 1, S. 117. *Mangin, L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1888, Bd. 107, S. 146. — (2) Recherches anatomiques sur les composés pectiques chez les végétaux; Journ. de Bot., 1892, S. 206 u. 1893, S. 37. *Marmier, L., (1) Le rouissage du lin. Miscellanées biologiques dédiées au Professeur Giard. Paris 1899, S. 440; ref. Bot. Centralbl., 1900, Bd. 83, S. 90. *Meyer, A., (1) Flora 1897, Bd. 84, S. 186. *Müller, Hugo, (1) Die Pflanzenfaser und ihre Aufbereitung für die Technik (Amtl. Bericht über die Wiener Weltausstellung, 1873, Bd. 3, Abt. I, 2). Braunschweig 1876. *Omelianski, W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 12, S. 33. *Pfuhl, E., (1) Karmarsch und Heerens Techn. Wörterbuch, 3. Aufl., Bd. 3, S. 510. — (2) Fortschritte in der Flachsgewinnung. Riga 1886. — (3) Weitere Fortschritte in der Flachsgewinnung. Riga 1895. *Prażmowski, A., (1) Bot. Ztg., 1879, Bd. 37, S. 414. — (2) Untersuchungen ü. d. Entwickelungsgesch. u. Fermentwirkung einiger Bakterienarten. Diss. Leipzig 1880. *Reichardt, (1) Ber. d Deutsch. Chem. Ges., 1875, Bd. 8, S. 808. *Richard, (1) Die Gewinnung der Gespinnstfasern. Braunschweig 1881. *Royle, J. Forbes, (1) The fibrous plants of India. London 1855. *Samoggia, M., (1) Le Staz. sperim. agr. ital., 1898, 5. ser., Bd. 31, S. 353; ref. Biedermanns Centralbl., 1900, Bd. 29, S. 602 und Chem. Centralbl., 1898, II., S. 1106. *Sawamura, S., (1) Bull. of the Coll. of Agric Tokio, 1902, Bd. 5, S. 259; ref. Chem. Centralbl., 1902, II, S. 1328. *Scheibler, (1) Ber. d. Deutsch Chem. Ges., 1868, Bd. 1, S. 59 u. 108; 1873, Bd. 6, S. 612. *Schöne, A., und Tollens, B., (1) J. f. Landwirtschaft, 1901, Bd. 48, S. 349. *Schulte im Hofe, A., (1) Der Tropenpflanzer, 1902, Bd. 6, S. 295. *van Senus, A. H. C, (1) Bijdrage tot de kennis der cellulosegisting. Diss. Leiden 1890. *Steglich, (1) Ber. über d. Tätigkeit der landw. Abt. der Kgl. Versuchsstation für Pflanzenkultur in Dresden im Jahre 1903. *Störmer, K., (1) Mitteilungen der Deutsch. Landw.-Ges., 1903, Bd. 18, S. 193. — (2) Ueber die Wasserröste des Flachses. Leipziger Diss., Jena 1904. *van Tieghem, Ph., (1) Bull. de la Soc. bot. de France, 1877, Bd. 24, S. 128. — (2) Ebenda, 1879, Bd. 26, S. 25; Comptes rend. de l'Ac., 1879, Bd. 88, S. 205. — (3) Comptes rend. de l'Ac., 1879, Bd. 89, S. 5. *Tollens, B., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1901, Bd. 34, S. 1434. *Tromp de Haas, R. W., (1) Untersuchungen über Pektinstoffe, Kokosschalen und Oxycellulose. Diss., Göttingen 1894. *Wehmer, C., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 140. — (2) Chem.-Ztg., 1898, Bd. 22, S. 1079.

— (3) Annales mycologici, 1903, Bd. 1, S. 37. ***Went,** F. A. F. C., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 544. ***Wiesner,** J., (1) Rohstoffe des Pflanzenreiches. Leipzig 1873. ***Winogradsky,** S., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1895, Bd. 121, S. 742. ***Wohl und Nissen,** (1) Ztschr. d. Vereins f. Rübenzuckerind., 1889, S. 924.

(*Manuskript-Einlauf: 11. Nov. 1904.*)

11. Kapitel.

Holzzerstörende Pilze und Haltbarmachung des Holzes.

Von Dr. C. Freiherr von Tubeuf,
Professor an der Universität und Vorstand der botan. Abteilung der Kgl. forstlichen Versuchsanstalt zu München.

(Mit Tafel VIII und IX.)

§ 81. Die Verholzung der Membran und die Zersetzung derselben durch höhere Pilze.

Man nahm früher an, daß die Bildung verholzter Zellmembranen dadurch zustande komme, daß eine Einlagerung verholzender Stoffe in 5 die Cellulosemembran (zwischen die Micelle dieser Membran) stattfände. Die verholzenden Stoffe belegte man mit dem Namen Lignin oder bezeichnete sie als die inkrustierenden Substanzen. Ihre Menge wurde dadurch bestimmt, daß man sie aus dem Holzkörper befreite — wie das bei der Herstellung von Papier mit verschiedenen Mitteln (Natron- 10 verfahren, Sulfitverfahren) technisch geschieht. Es bleibt dann eine von diesen inkrustierenden Substanzen befreite Cellulose übrig.

In ähnlicher Weise dachte man sich den Vorgang bei der Trennung der inkrustierenden Substanzen von einer übrig bleibenden Cellulosemembran durch die Enzyme höherer Pilze. Und da sich bei den ein- 15 zelnen holzbewohnenden Pilzen große Verschiedenheiten in der Art dieser Trennung von Cellulose und inkrustierenden Substanzen, der Auflösung der Cellulose und dem Verbrauch dieser Stoffe als Nährmittel zeigten, so schloß man, daß wohl jeder der holzzersetzenden Pilze ein ihm eigentümliches Enzym mit besonderem Auflösungsvermögen besitze.

20 Auch heute ist eine völlige Klarheit über den chemischen Aufbau der verholzten Membran nicht erreicht und die Art der Enzymwirkung höherer Pilze auf die verholzte Membran noch ungenügend bekannt (s. Zeisel [1]). Behandelt man Holz mit dem Schulze'schen Mazerationsgemisch (verdünnte Salpetersäure und chlorsaures Kali bei höchstens 25 15 ° C und 14-tägigem Stehenlassen), so gehen die sogenannten inkrustierenden oder Ligninsubstanzen fast gänzlich in Lösung und es bleiben von ihnen bei der befreiten Dextrosocellulose nur Spuren zurück. Die Dextrosocellulose dagegen wird von dem Schulze'schen Gemische fast gar nicht angegriffen und es wird von ihr nur sehr wenig zur Lösung 30 gebracht. Dagegen gehen besonders bei den Laubhölzern Wandbestandteile anderer, löslicher Cellulosen mit den Ligninsubstanzen weg (Zeisel [1]). In der Mikroskopie und bei der Anwendung mikro-

chemischer Reaktionen pflegt man den nach Anwendung des SCHULZE-schen Mazerationsgemisches verbleibenden Membranteil kurz als Cellulose, die gelösten Stoffe aber mit dem Sammelnamen Lignin zu bezeichnen.

Die von den Ligninsubstanzen befreite Membran des Holzkörpers zeigt dieselben chemischen Reaktionen wie die nicht verholzenden Membranen. So die violette oder lila Färbung der Membran nach Behandlung mit Chlorzink-Jodlösung oder mit Jod und konzentrierter Schwefelsäure.

Die **Cellulosemembran** läßt sich in Kupferoxyd-Ammoniak lösen und aus dieser Lösung mit Säuren wieder fällen. Auch in konzentrierter Chlorzink-Salzsäure und in konzentrierter Schwefelsäure ist sie löslich, nicht aber in verdünnten Säuren und Alkalien. Man kann bei verdickten Cellulosemembranen Verschiedenheiten in der Reaktion der primären, sekundären und tertiären Membranlamelle unterscheiden. Diese Verschiedenheit kommt nach MANGIN daher, daß die primäre Lamelle (die Trennungsschicht) hauptsächlich aus Pektinstoffen (pektinsaurem Kalke besonders) besteht. Diese sind in Alkalien löslich, wenn man die Membranen vorher in verdünnte Säuren gebracht hat. Die primäre Lamelle zeigt daher die Chlorzink-Jodreaktion nicht, während diese bei der fast nur aus Cellulose bestehenden tertiären Membran sehr deutlich ist. Die sekundäre, (die verdickte) Membran besteht aus Cellulose, welche zwar noch reich an Pektinstoffen ist, die Chlorzink-Jodreaktion aber deutlich gibt. Auch die Intensität der Färbung mit Farbstoffen ist bei den drei Lamellen eine verschiedene und zeigt die Zunahme der Cellulose von der primären zur tertiären Membran und dementsprechend die Abnahme der Pektinstoffe. Ueber die Chemie der Cellulosemembran und die Cellulosegärung vgl. das 9. Kapitel vorliegenden Bandes, ferner CZAPEK (3).

Die **verholzte Membran** unterscheidet sich sowohl bezüglich ihrer Löslichkeit wie ihrer Farbenreaktion deutlich von der Cellulosemembran. Sie zeigt aber ebenfalls Verschiedenheiten ihrer drei Lamellen.

Die primäre Lamelle gibt die für Holz charakteristischen Farbenreaktionen am deutlichsten. Die tertiäre (Innen-)Lamelle zeigt dagegen oft deutliche Cellulose- und nicht die Holzreaktion. Die sekundäre (verdickte und vielfach mit spiraligen Leisten versehene Schicht) zeigt die Holzreaktionen deutlich, kann aber auch Cellulosereaktion geben. Die gebräuchlichsten Holzreaktionen sind besonders: Die (von WIESNER gefundene) Rotfärbung nach Behandlung mit Phloroglucin und Salzsäure, und die Gelbfärbung nach Behandlung mit salzsaurem oder schwefelsaurem Anilin. Eine große Anzahl weiterer Reaktionen hat CZAPEK (1) zusammengestellt. Ueber die Chemie der verholzten Membran vgl. auch CZAPEK (3).

Behandelt man die verholzte Membran mit dem SCHULZE'schen Gemisch von chlorsaurem Kali und Salpetersäure, wodurch, wie oben erwähnt, die Cellulose frei wird und ungelöst erhalten bleibt, während die anderen Membranbestandteile gelöst weggeführt werden können, dann ist auf mikroskopischen Schnitten die primäre Lamelle fast gänzlich gelöst, während die sekundäre und die tertiäre Membran erhalten blieben, deutlich Cellulosereaktion geben und in Kupferoxyd-Ammoniak sich lösen, was die unveränderten, verholzten Membranen nicht tun. Ist also bei einem Holze die sekundäre Membran nicht verholzt sondern nur aus Cellulose, dann wird diese Membranlamelle in Kupferoxyd-Ammoniak in Lösung gehen. Dies ist aber z. B. bei *Pinus Strobus* und nach POTTER (1) bei den Fasern von Laubhölzern der Fall. Wie POTTER (1) nämlich

zeigte, bleibt häufig die Verdickungsschicht der Laubholzfasern, und besonders bei den Wurzeln, in unverholztem Zustande, worauf bei der Beurteilung von Zersetzungserscheinungen zu achten ist. Ja Potter meint, lokale Bedingungen des Bodens und Klimas schienen in einigen 5 Fällen die völlige Verholzung zu verzögern, die unverholzten Membranen befänden sich in einem Stadium gehemmter Entwicklung und manche Bäume seien dadurch konstitutionell schwach und empfänglich für Pilzangriffe. Er bemerkt auch, daß, wenn man Holzspäne in Wasser koche, ein Extrakt gewonnen wird, das wie Holz reagiere.

10 Nach den neueren Untersuchungen von Czapek (1) sind nicht die sog. Ligninsubstanzen die Träger der Ligninreaktionen, sondern Träger dieser Reaktion ist allein das Hadromal, ein aromatischer Aldehyd, der mit der Cellulose in chemischer Verbindung ist als Hadromalcellulose-Aether. Hadromal macht nur 1—2 Proz. der Trockensubstanz des Holzes unserer 15 Waldbäume aus, ist aber in den verholzten Membranen des Holzkörpers unserer Waldbäume zumeist an Cellulose gebunden, zum Teil aber auch frei und direkt extrahierbar, stets vorhanden. Nach seiner Zerstörung treten die vorher genannten Holzstoffreaktionen nicht mehr ein, dagegen zeigen verholzte Membranen dann immer noch die von Mäule (1) ent- 20 deckte rote Manganatreaktion. (Behandeln mit übermangansaurem Kali, Auswaschen mit Wasser, Zusatz von Salzsäure, Auswaschen, Zusatz von Salmiakgeist: Eintritt der Rotfärbung bei verholzten Membranen.) Faber (1) weist nach, daß auch nicht verholzte Zellwände die Hadromalreaktion geben und daß andererseits nicht in allen verholzten Membranen 25 Hadromal vorkommt.

Die Kaliumpermanganat-Reaktion versagte bisher nicht als Holzreagens, doch ist nicht bekannt, welcher chemische Körper die bei dieser Reaktion auftretende Rotfärbung des Holzes bedingt. Lindroth (1) erhielt bei Laubhölzern immer eine sehr deutliche, bei Nadelholz aber fast 30 keine Permanganatreaktion. Grafe (1) hält die Wiesner'schen Reaktionen für die Reaktionen auf Vanillin und für empfindlicher als die Reaktionen von Mäule. Der Begriff „Hadromal“ sei als Bezeichnung des chromogenen Körpers der Holzsubstanz als Individualbegriff zu streichen und wäre höchstens als Kollektivname für die von ihm konstatierten Be- 35 standteile der Holzsubstanz (Vanillin, Methylfurfurol, Brenzkatechin) aufzufassen. Czapek (3) bleibt demgegenüber auf seiner Annahme bestehen.

Der Gehalt an Cellulose beträgt nach Zeisel (1) im Holze unserer Waldbäume 47—62 Proz. der Trockensubstanz. Demnach bleiben 40 für die durch das Schulze'sche Gemisch gelösten sog. Ligninsubstanzen 38—53 Proz. Von diesen sind als Holzgummi 8—26 Proz., Ligninsäuren 12—14 Proz., Hadromal 1—2 Proz. bestimmbar. Es beträgt demnach der Cellulosegehalt etwa die Hälfte der Trockensubstanz des Holzes der Waldbäume, so z. B. bei der Rotbuche: 44—52 Proz., Holzgummi (mit 45 kalter Natronlauge extrahiert) 22—26 Proz., mit heißer, konzentrierter Natronlauge extrahierte Stoffe: 18—24 Proz., und Asche 1,52—1,76 Proz. In Nadelhölzern findet sich dagegen nur wenig Holzgummi, welches von Wheeler und Tollens als Xylan, ein Pentosenderivat, bezeichnet wird. Holzanalysen von Chevandier ergaben, berechnet auf das absolut 50 trockene und aschenfreie Holz: C: 49,9—56,9 Proz., H: 6—6,6 Proz., N: 0,9 bis 1,5 Proz., O: 37,4—43,1 Proz. Analysen von Daube ergaben für inneres Holz ohne Rinde (aus Brusthöhe entnommen) einer 60-jährigen Fichte berechnet auf aschenfreie, trockene Substanz: 48,82 Proz. Kohlen-

stoff, 5,82 Proz. Wasserstoff und 45,36 Proz. Sauerstoff und Stickstoff; für eine 100 jährige Weißtanne: 51,43 Proz. Kohlenstoff, 5,96 Proz. Wasserstoff und 42,61 Proz. Sauerstoff und Stickstoff; für Kernholz einer 100-jährigen Kiefer: 51,64 Proz. Kohlenstoff, 6,14 Proz. Wasserstoff und 42,22 Proz. Sauerstoff und Stickstoff, während reine Cellulose 44,4 Proz. Kohlenstoff, 6,2 Proz. Wasserstoff und 49,4 Proz. Sauerstoff enthält. Weitere Analysen s. bei CZAPEK (3). Der Wassergehalt frischen Holzes beträgt 20—61 Proz. des Frischgewichtes. Man hat bisher aus der blaugrünen Reaktion, die verholzte Membranen nach Behandlung mit Phenolsalzsäure am Sonnenlichte zeigen, auf die Gegenwart von Coniferin und aus der gelben Reaktion nach Behandlung mit Thallinsulfat auf die Gegenwart von Vanillin geschlossen. CZAPEK (1) bestreitet aber neuerdings das Vorkommen von Coniferin im Holze, während GRAFE (1) an dem Vorkommen von Coniferin und Vanillin im Holze festhält. Die nach Baumteilen und Holzarten wechselnde Asche, die im Durchschnitt etwa 2 Proz. der Trockensubstanz beträgt, besteht vorwiegend aus kohlensaurem Kalk und kohlensaurem Kali.

Als Nährstoffe für holzbewohnende Pilze kommen noch die im Leitungswasser gelösten anorganischen und organischen Stoffe, besonders Zucker in Betracht, ferner der Inhalt der Parenchymzellen an stickstoffreichem Plasma, an Stärke, Zucker, Oel, Gerbstoff usw. Besonders große Verschiedenheiten zeigen die Hölzer an Gerbstoff, der auch in den toten Organen abgelagert wird und in schwer löslichen Modifikationen vorkommt, sowie der Gehalt an Farbstoffen. Letztere sind besonders im Kernholz der Bäume vertreten.

Es sind demnach im Holze genügende Mengen von Nährstoffen für zersetzende Pilze vorhanden. Insbesondere sind Kohlenhydrate vorzüglich als Cellulose, dann im Lignin, in der Stärke und im Zucker geboten. Stickstoff ist wohl in Resten des lebenden Zellinhaltes auch noch in den toten Organen, die beim Nadelholze die Hauptmasse ausmachen, vorhanden, ferner in reichlicher Menge im plasmareichen Parenchym, was bei manchen Bäumen, z. B. den Tannen, nur in den Markstrahlen vertreten ist, bei Laubhölzern aber als Strang- und Strahlenparenchym einen großen Prozentsatz der Holzmasse beträgt. Da diese Zellen im Sommer reich an Zucker sind, bietet ein im Sommer gefälltes Laubholz, wie z. B. die Buche, ein vorzügliches Nährmittel für die verschiedensten Pilze und zeigt schon bald nach der Fällung alle möglichen Farben der angesiedelten Pilze, die zunächst in die Markstrahlen eindringen und sich dann weiter verbreiten. In der Praxis nennt man diesen Vorgang schnellen Pilzbefalles, der Verfärbung und Zersetzung das Vermucken des Holzes.

Wollen aber die Pilze diese Stoffe sich nutzbar machen, dann müssen sie sich einen Weg durch die Zellwände bahnen. Dies kann teils auf mechanischem, teils auf chemischem Wege erfolgen, worauf schon A. DE BARY (2) hinwies. Experimentell stellte MIYOSHI (1) fest, daß den durch Chemotropismus (s. Bd. I, Kap. 17, § 104) gereizten Hyphen ein mechanisches Durchbohren von Cellulosemembranen (und sogar von zarten Goldhäutchen) möglich ist. Mit dem mechanischen Durchbohren dürften aber in der Regel chemische Auflösungsprozesse verbunden sein. Je weniger letzteres der Fall ist und je elastischer die Membran ist, um so mehr werden die Durchlochungen der Membranen durch Pilzfäden nach Absterben der letzteren sich wieder schließen und somit unsichtbar werden. Je mehr aber chemische Auflösungen stattfinden, um so größer

und deutlicher bleiben die Durchlochungen besonders der verholzten Membrane erhalten. Angaben über Cellulosezersetzung und Bildung celluloselösender Enzyme durch Eumyceten sind schon im § 75 des 9. Kapitels des vorliegenden Bandes gemacht worden, auf welche hier nur kurz rückverwiesen sei.[1])

Bei den holzzerstörenden Pilzen mußten ihrer Wirkung nach verschiedene Enzyme angenommen werden; es ist aber erst durch die Untersuchungen CZAPEK's (2) gelungen, solche näher kennen zu lernen. Er isolierte aus dem Mycele des Hausschwammes, *Merulius lacrymans*, ein Enzym „Hadromase“, welches die ätherartige Hadromalcellulose-Verbindung der Holzmembran spaltet, so daß Hadromal frei und extrahierbar wird. Ein gleiches gelang bei *Pleurotus pulmonarius*. Da das Hadromal, der Träger der Ligninreaktion, von den Pilzhyphen offenbar nicht oder nur in geringer Menge aufgenommen wird, zeigt das vom Hausschwamm zersetzte Holz — wie HARTIG schon hervorhob — noch deutliche Lignin-, d. h. also Hadromalreaktion. Da aber das abgespaltene Hadromal in Lösung geht, zeigt der alkoholische Auszug des zersetzten Holzes nach CZAPEK dieselbe Reaktion deutlich. Die holzzerstörenden Pilze zeigen aber nach den Untersuchungen HARTIG's bezüglich des Grades ihrer Fähigkeit, die Cellulose frei zu machen oder in der Holzmembran ganze Löcher gleichmäßig zu veranlassen oder die Zersetzung in anderer Weise zu bewerkstelligen, große Verschiedenheiten, ja es ermöglichen schon die äußeren Bilder der Zersetzungserscheinungen des Holzes, einen Schluß auf die Spezies des Zerstörers zu ziehen.

Da bei den Zerstörungen nicht bloß der Hadromalcellulose-Aether gespalten, sondern die frei gewordene Cellulose auch wieder gelöst und verbraucht wird, muß ein zweites Enzym angenommen werden, welches CZAPEK Cytase nennt, während KOHNSTAMM die Bezeichnung Cellulase vorzieht. Letzterer hat von einigen holzzersetzenden Pilzen (*Merulius*

---

[1]) Die auf Cellulose lebenden Pilze kommen auch bei der Stockfleckenbildung von Papier und Leinenstoffen in Betracht, es sind aber bisher nur die Stockflecke der Wollstoffe beschrieben worden, über welche, weil sie technisch von Wichtigkeit sind, einige gelegentliche Bemerkungen angefügt werden mögen. Unter Stock versteht man auch nach KALMANN (1) helle verfärbte Stellen der Wollhaare gefärbter Schafwollwaren. KALMANN erzeugte auf einem weißen Tuche dadurch Stockflecke, daß er es in angefeuchtetem Zustande um ein vermodertes Holzstück wickelte und das ganze im Feuchtraum bei 40° C einige Tage beließ. Von den so erzielten Flecken wurden Agarkulturen angelegt. Eine der sich hier entwickelnden Kulturen wurde auf Tuchmuster geimpft und erzeugte daselbst helle Flecke. Schwach saure oder mit Methylenblau gefärbte Stücke wurden nicht fleckig. KALMANN zieht aus seinen Beobachtungen folgende Schlüsse: „1. Der Stock wird durch eine Bakterienart hervorgerufen. 2. Die Stockbakterien sind gegen verdünnte Säuren, sowohl anorganische wie organische, sehr empfindlich. 3. In saurer Flotte gefärbte Stücke werden vor dem Auswaschen der Säure nicht stockig. 4. Wenn sich in auf saurer Flotte ausgefärbten Stücken nach dem Färben Stockflecken zeigen, so waren diese schon im ungefärbten Stücke vorhanden. Bei Verwendung von Beizenfarbstoffen kann das Erkenntlichwerden der Stockflecken auch erst nach längerer Zeit erfolgen. 5. Am schnellsten entwickelt sich der Stock auf schwach alkalischen küpenblauen Stücken. 6. Indigo wird von den Stockbakterien tatsächlich zerstört, und die hellen Flecken sind entweder ganz oder zum Teile darauf zurückzuführen. Bei vielen anderen Farbstoffen ist aber die Entstehung der lichten Flecken durch die Zerstörung der Wollhaare zu erklären. 7. Manche Farbstoffe, wie z. B. Methylenblau, wirken gegenüber den Stockbakterien direkt antiseptisch, so daß sich auf mit solchen Farbstoffen gefärbten Tuchen trotz alkalischer Reaktion derselben kein Stock entwickelt.“ — WEHMER (1) züchtete aus gefärbtem Wollenzeug, welches beim Lagern in Indien mattgraue Flecke bekommen hatte, einen grau-grünen Schimmel, der sich in der überwiegenden Zahl von Fällen als *Aspergillus fumigatus* FRES. erwies. Infektionen zur Erzielung von Flecken wurden jedoch nicht ausgeführt.

lacrymans, Agaricus melleus, Polyporus squamosus) noch eine Reihe anderer Enzyme in Mycel und Fruchtkörpern nachgewiesen. Nach seinen Angaben ist es die Amylase, die den befallenen Hölzern die Stärke entzieht, das Emulsin dürfte seine Wirkung u. a. auf das Coniferin der Coniferenhölzer und das Aesculin der durch *Polyporus squamosus* er- 5 krankten Kastanienbäume ausüben und aus diesen Glycosiden den Zucker zum Zwecke der Assimilation abspalten. Die ferner nachgewiesenen proteolytischen Enzyme dieser Pilze hätten das Plasma des Holzparenchyms wie auch die eiweißartigen Bestandteile des Bastes (Siebröhren) in resorbierbare, lösliche Substanzen überzuführen. Er gibt auch 10 den Nachweis, daß Amylase, Emulsin und das proteolytische Enzym gleichzeitig wirksam sind. Es ist ferner von Hjort aus *Polyporus sulphureus* und *Agaricus ostreatus* ein trypsinähnliches proteolytisches Enzym und von Bourquelot und Hérrissey sind emulsinähnliche Enzyme aus holzbewohnenden Pilzen isoliert worden (vgl. d. 26. Kap. d. I. Bds.). 15 Nach Hartig (2) werden die in die Membran eingelagerten Kalkkörnchen von Hausschwammhyphen an den Stellen innigen Kontaktes mit der Membran gelöst (vgl. *Fig. 48* auf S. 296).

Wesentlich erschwert ist die Nahrungsaufnahme der holzzersetzenden Pilze im **Kernholz** der Bäume, besonders deshalb, weil im Kernholz alle 20 Organe tot sind und demnach das Plasma und die Inhaltsbestandteile lebender Parenchymzellen fehlen, weil ferner eine Leitung des besonders anorganische Nährstoffe und Zucker enthaltenden Wassers hier aufgehört hat. Das Kernholz muß demnach besonders ärmer an Eiweißverbindungen, Zucker und Stärke sein. Es ist außerdem oft reich an ausgeschiedenen, 25 weniger angreifbaren Stoffen, wie Holzgummi, höheren Oxydationsstufen von Gerbstoffen und an Farbstoffen. Es erscheint das Kernholz daher gegen Insekten und saprophytische Pilze wesentlich widerstandsfähiger wie das Splintholz; d. h. die Verkernung bewirkt die längere Dauer des der Zerstörung ausgesetzten Holzes. Infolgedessen findet bei vielen 30 Holzarten überhaupt nur das Kernholz technische Verwendung. Es sind aber nicht etwa antiseptisch wirkende Stoffe im Kernholze, welche es gegen die Angriffe der Pilze schützen, vielmehr wird ja jedes Kernholz von den Pilzen schließlich zerstört, nur nicht so leicht wie das Splintholz derselben Holzart, welches für die Pilze ein weit besserer 35 Nährboden ist. Ja, es wird bei sehr vielen stehenden Bäumen das Kernholz von parasitären Pilzen bewohnt und zerstört, so z. B. das Kernholz der Eiche von *Polyporus igniarius, P. sulphureus, P. dryadeus, Stereum hirsutum* und *St. frustulosum, Hydnum diversidens* usw., das Kernholz der Esche von *Polyporus sulphureus* und *P. hispidus* usw., das Kern- 40 holz der Robinie von *Polyporus rimosus* und *P. sulphureus* usw., das Kernholz der Lärche von *Polyporus officinalis, P. sulphureus* und *Trametes Pini* usw., das Kernholz der Kiefer von *Trametes Pini, Polyporus sistotremoides, P. vaporarius* usw. Und andererseits ist unter den Pappeln das Holz des Splintholzbaumes, *Populus tremula*, dauerhafter als das 45 Kernholz von *Populus nigra*.

Die Verkernung ist als ein Prozeß der lebenden Holzzellen des Splintes zu betrachten, der in verschiedenem Alter des Baumes eintreten kann. Am wenigsten Kernteil besitzt das Wurzelholz. Die Verkernung wird so, wie früher auch die Verholzung, als eine Inkrustierung der 50 Membran mit den verkernenden Substanzen aufgefaßt. Es folgt aber bei vielen Holzarten gleichzeitig auch eine Erfüllung der Lumina mit diesen Stoffen, so daß der Kern, für Wasserleitung und zum Teil auch

für Speicherung außer Funktion gestellt, nur noch mechanischen Aufgaben dienen kann. Die verkernenden Substanzen sind nach der Holzart sehr verschieden. Wenn man sie mittelst SCHULZE'schem Mazerationsgemisch und Kalilauge zu entfernen versucht, bleibt die Cellulose der Membran schließlich allein übrig. Zu den verkernenden Substanzen gehören Harze und harzartige Körper, Holzgummi, Gummi, Gerbstoffe, Farbstoffe, kohlensaurer Kalk usw. Durch diese Einlagerungen wird der Kern substanzreicher als der Splint war. Sein höheres spezifisches Gewicht ist zum Teil aber auf sein früheres Entstehen bei solchen Holzarten zu setzen, bei denen das ältere Holz schwerer ist als das jüngere.

Es kann angenommen werden, daß die Enzyme, welche im Splintholze die verholzte Membran so zerstören, daß nur der Celluloseteil übrig bleibt, in gleicher Weise die verholzte Membran im Kernholze lösen, denn das Zersetzungsresultat ist dasselbe, es bleibt nur Cellulose übrig. Es ist aber wohl möglich, daß — besonders den mit geringerer Enzymwirkung ausgestatteten Arten — diese Einwirkung auf die verholzte Membran durch deren Einhüllung resp. Imprägnierung mit nicht oder mit wenig angreifbaren Substanzen erschwert wird.

Es scheint nach den Untersuchungen HARTIG's (1), die durch eine Arbeit von MARZELL (1) Bestätigung fanden, sicher, daß die spezifische Enzymwirkung der einzelnen Pilzarten auf das Holz der verschiedenen vom gleichen Pilze bewohnten Holzarten die gleiche ist. Man kann demnach aus der Zersetzungserscheinung auch bei verschiedenen Holzarten auf bestimmte Pilzspecies als Urheber der Zersetzung schließen. So ist schon die äußere Erscheinung der Holzzerstörung, welche *Trametes Pini* einerseits und *Trametes radiciperda Hartig* = *Polyporus annosus Fr.* andererseits hervorrufen, so charakteristisch und untereinander verschieden, daß sie sofort spezifisch festgestellt werden kann, sei es, daß sie an der Fichte, der Lärche oder irgend einer Kiefernart oder bei *Tsuga* oder *Pseudotsuga* aufgetreten ist. Und sie bleibt die gleiche im Splintholze wie im Kernholze der Nadelholzbäume (s. *Fig. 42*). Auch *Polyporus sulphureus*, der nicht nur an verschiedenen Laubhölzern (Eiche, Weiden, Pappeln, Eschen, Kirschen, Birnbäumen, Apfelbäumen, Robinien, Nußbäumen usw.) sondern auch an Tannen und Lärchen auftritt, verursacht jeweils die gleiche charakteristische Verfärbung und Zersetzung des Holzes.

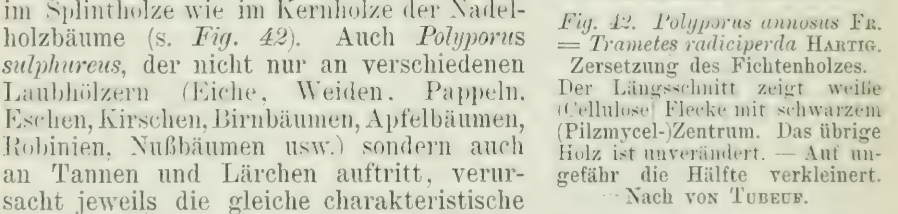


Fig. 42. Polyporus annosus FR. = *Trametes radiciperda* HARTIG. Zersetzung des Fichtenholzes. Der Längsschnitt zeigt weiße (Cellulose) Flecke mit schwarzem (Pilzmycel-)Zentrum. Das übrige Holz ist unverändert. — Auf ungefähr die Hälfte verkleinert. Nach VON TUBEUF.

Der Hausschwamm gar läßt sich mit dem Holze aller möglichen Holzarten ernähren, wenn auch die Geschwindigkeit der Zerstörung nach der Dichte des Holzes und bei den verschiedenen Hölzern nicht die gleiche ist. Es wird auch von allen diesen Pilzen sowohl das Splintholz wie auch das Kernholz bewohnt und zerstört, ja bei manchen Arten scheint gerade der erste Angriff meist Wundstellen des Kernholzes zu treffen.

Eine besonders auffallende Erscheinung ist es, daß die den ganzen

Holzkörper durchwuchernden Mycelmassen nicht immer gleichmäßig das ganze Holz zersetzen, sondern vielfach das Holz nur inselweise angreifen und an diesen Inseln so vollständig auflösen, daß entweder hier nur reine Cellulose übrig ist, oder daß auch diese gelöst wird, so daß leere Höhlungen im Holzkörper entstehen. Das Holz außerhalb dieser Höhlungen 5



Fig 43. Zersetzung des Lärchenholzes durch *Trametes Pini.* Die weißen Flecke sind reine Cellulose. — Natürl. Länge 25 cm. Nach VON TUBEUF.

ist zwar von Pilzfäden durchwuchert, und seine Zellwände sind durchbohrt, es erscheint aber chemisch noch in unverändertem Zustande. Solche Inseln bildet z. B. *Trametes Pini*; das von ihm zersetzte Holz zeigt isolierte weiße Flecke, die aus reiner Cellulose bestehen (s. *Fig. 43*). Ein ganz ähnliches Bild entsteht durch die Zersetzung des Holzes durch 10 *Polyporus annosus (Trametes radiciperda)*, nur daß in der Mitte der Celluloseinseln sich Mycel anhäuft und an diesen Stellen eine dunkle Farbe annimmt. Es haben daher alle weißen Flecke ein dunkles Zentrum. Bei *Stereum frustulosum* beginnt die Zersetzung ebenfalls mit der Bildung solcher Celluloseinseln, es werden aber auch diese allmählich so gründ- 15 lich aufgelöst, daß große Höhlungen im Eichenkernholze entstehen. Bei anderen Pilzen tritt eine völlige Zerstörung des Holzes bis auf den Cellulosereest nicht bloß an kleinen Inseln, sondern an großen Holzstücken gleichmäßig auf, so z. B. bei *Polyporus dryadeus.* Doch kommt es auch bei *Trametes Pini* im Kernholze der Lärche vor, daß große Holzstücke 20 ganz bis auf die Cellulose zersetzt werden (s. *Fig. 44*). Bei anderen Pilzen wird das ganze Holz gleichmäßig gelb oder braun verfärbt und nicht bis zur Cellulose zerstört, so z. B. bei *Polyporus Hartigii* an der Weißtanne oder bei *Merulius lacrymans.*

Wie die äußeren Zersetzungserscheinungen sich unterscheiden, so 25

verhalten sich die Mycele der einzelnen Arten auch verschieden bei der chemischen Zerstörung der Zellmembrane. HARTIG (1) hat die einzelnen Stufen der Membranauflösung des Kiefernholzes durch das Enzym von *Trametes Pini* bildlich dargestellt (s. *Fig. 45*) und beschrieben. Dieser Pilz löst zuerst die stark verholzten Membranen auf, so daß die wenig verholzte tertiäre Membran sich am längsten erhält. Der Vorgang erinnert an den bei der Behandlung des Holzes mit SCHULZE'schem Mazerationsgemisch. Bei *a* ist der normale Zustand der Zellwand erhalten. Dieselbe zeigt drei verholzte Wandschichten und eine deutliche Schichtung der sekundären Membran. Die Auflösung der inkrustierenden Substanzen hat in *b* zunächst die Spaltung der primären, für gewöhnlich einfach erscheinenden Hautschicht in zwei Lamellen zur Folge, so daß die Elementarorgane auseinanderfallen. Der aus Kalk bestehende Ring in der Umgebung des Hofraumes *d* erhält sich längere Zeit. Schon auf der rechten Seite der Zelle *b* besteht die Wand nur noch aus Cellulose, was dadurch markiert ist, daß die Schichtungen nicht mehr gezeichnet sind, obgleich sie erhalten bleiben. Bei *e* verschwindet zunächst die primäre Hautschicht; dann erfolgt nach *f* hin die Auflösung auch

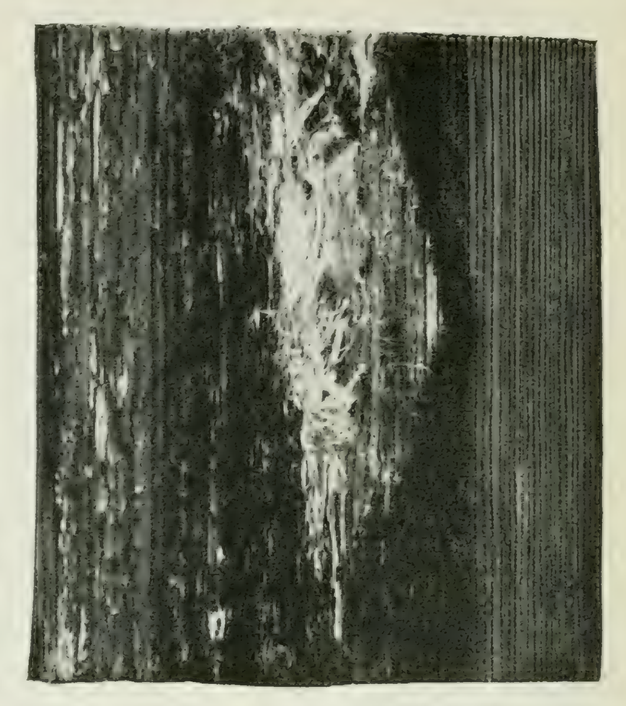


Fig. 44. Zersetzung des Lärchenholzes durch *Trametes Pini.* Es ist ausnahmsweise ein großes Stück des Holzes völlig in weiße Cellulose verwandelt. — Länge des Stückes 20 cm. Nach VON TUBEUF.

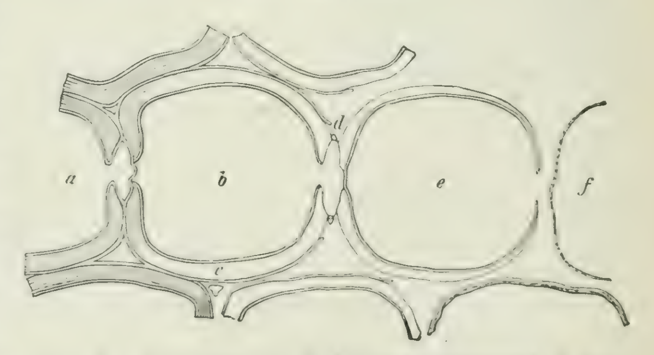


Fig. 45. Querschnitt durch Kiefernholztracheiden in der Auflösung durch das Enzym von *Trametes Pini.* — Vergr. 100. Nach R. HARTIG.

der sekundären und tertiären Schicht, in der endlich die Aschenbestandteile als feine Körnchen hervortreten, wie dies sehr gut *Fig. 46* zeigt, an der auch die Bohrlöcher der Pilzhyphen zu sehen sind. Eine andere Gruppe von Pilzen greift zuerst und am meisten die cellulosereiche, wenig verholzte tertiäre Membran an, in ähnlicher Weise wie dies bei der Behandlung des Holzes mit konzentrierter Schwefelsäure

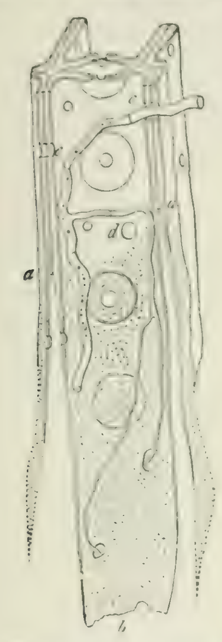


Fig. 46. Tracheide von *Pinus silvestris*, durch *Trametes Pini* zerstört. Die primäre Zellwand ist bis zu *a a* völlig aufgelöst. Die sekundäre und tertiäre Wandschicht ist im unteren Teile nur noch aus Cellulose bestehend, in welcher die Kalkkörnchen deutlich erkennbar werden *b*. Pilzfäden *c* durchbohren die Wände und hinterlassen Löcher *d* und *e*. — Nach R. Hartig.

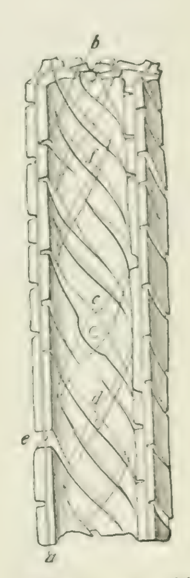


Fig. 47. Tracheide von *Pinus*, durch *Polyporus sistotremoides (Alb. et Schw.)* = *P. Schweinitzii* zerstört. Die Cellulose ist extrahiert. Im trocknen Zustande erhält die Wand Risse, die sich aber nicht auf die primäre Wand *a b* erstrecken. Kreuzung der Spalten an den Hoftüpfeln *c* und den Bohrlöchern *d* und *e*. Einfache Spalten bei *f*. — Nach R. Hartig.

geschieht. Zu dieser Pilzgruppe gehören z. B. *Polyporus vaporarius*, *P. Schweinitzii*, *P. sulphureus*. Bei ihrer Einwirkung sieht man kaum eine Veränderung der nur wenig Cellulose führenden primären Wandschicht (*Fig. 47*), wogegen die sekundäre Wand in dem Grade zusammenschrumpft, daß sie große und zahlreiche Schwindrisse bekommt, die, entsprechend der Wandstruktur, eine spiralige Richtung anzunehmen pflegen. Bei der Birke fand Lindroth (1), daß *Polyporus nigricans*, *P. igniarius*, *P. pinicola*, *P. betulinus*, *P. lepideus*, *P. laevigatus*, *P. vaporarius* und *Merulius lacrymans* darin miteinander übereinstimmen, daß sie das Birkenholz alle derart zersetzen, daß zuerst das Hadromal und nachher das Lignin (im Sinne Mäule's) verloren geht, und daß die Zellwände von innen nach außen angegriffen und verzehrt werden. Obwohl also die Zersetzung eine fast ganz gleiche zu sein scheint, so ist das zersetzte Holz besonders in trockenem Zustande doch

nicht gleich. Das von den beiden erstgenannten Pilzen zersetzte Holz ist etwas längsfaserig, von den übrigen zersetztes wieder so locker, daß es zwischen den Fingern fast zu Pulver zerrieben werden kann. Die Art und Weise, auf welche die Mineralbestandteile der verholzten Mem- 5 branen entfernt werden, spielen hierbei vielleicht eine Rolle. Natürlich wird auch die Zersetzung eine verschiedene sein, je nachdem die tertiäre Membran reine Cellulose oder gleich der sekundären oder der primären Wand verholzt ist, und je nach dem Grade der Verholzung dieser Membranen. Diese Verhältnisse sind aber bei den einzelnen Holzarten nicht 10 gleich. Das Holz nimmt bei der Zersetzung an Gewicht und Volumen ab, und die Membranen bekommen dann entsprechend der Zersetzungsart charakteristische Schwindrisse und -Spalten, wie *Fig. 47* gezeigt hat. Die einzelnen Pilze verhalten sich auch verschieden in der Aufnahme



Fig. 48. Vom Hausschwamm stark zersetztes Wandstück. Die Mittellamelle *a* und die innersten, das Lumen der Zelle begrenzenden Lamellen (*b* u. *l*) zeigen relativ große, regelmäßig gelagerte Kristalle von oxalsaurem Kalk. Ebenso ist bei *cc* der Umfangsring eines Hoftüpfels durch große, dicht aneinandergereihte Kalkkristalle ausgezeichnet. In der Flächenaufsicht treten die von farbloser, organischer Substanz eingehüllten Aschenkristalle durch helle Lichtbrechung hervor, nur da, wo eine Pilzhyphe gelegen hat (*d*), sind die Kristalle verschwunden. — Vergr. 1560. Nach Hartig.

des Gerbstoffes im Holze, im Lösen des in der Wand abgelagerten 15 Kalkes (*Fig. 48*) und der im Parenchym lagernden Stärke, worüber Näheres in des Verfassers Handbuch über „Pflanzenkrankheiten“ zu ersehen ist.

Eine Anzahl chemischer Analysen von zersetzten Hölzern hat Hartig (1) veröffentlicht, deren Wiedergabe hier zu weit führen würde.

20 § 82. Die Zerstörung des stehenden Holzes.

Bei der Zerstörung des stehenden Holzes, d. h. der lebenden Bäume im Walde, im Park oder im Garten (besonders Obstgarten), sind Parasiten, Wundparasiten und Saprophyten beteiligt. Dabei spielen die Wundparasiten die größte Rolle. Sie sind es daher auch, gegen welche 25 energische Maßnahmen in der Praxis ergriffen werden.

Die **echten Parasiten,** welche in unverletzte Pflanzenteile einzudringen vermögen, leben naturgemäß nicht bloß im Holze sondern auch in der Rinde ihrer Wirtspflanze. Ihre Schädigungen sind direkte und indirekte. Zu den am meisten dem Parasitismus angepaßten Pilzen ge- 30 hören die Uredineen (s. Bd. I, S. 218). Unter ihnen sind Bewohner lebender Baumstämme besonders *Peridermium Strobi* an *Pinus Strobus* und *Pinus Cembra* (als *Cronartium ribicolum* auf Johannisbeerarten) und die nächst verwandten Arten, wie *Peridermium Pini*, ferner *Peridermium giganteum*, *P. deformans*, *Aecidium elatinum*. Dann sind auch 35 die Gymnosporangiumarten hierher zu rechnen, wenn die durch sie ver-

ursachte Beschädigung auch nicht groß ist. Die praktische Bedeutung des Weymouthskiefern-Blasenrostes (*Peridermium Strobi*) besteht mehr im Töten junger Pflanzen, jene des *Peridermium Pini* aber in der Zerstörung der technisch wertvollen Baumstämme. Sie ist aus einer Mitteilung DANCKELMANN's (1) über eine Erhebung der durch *Peridermium Pini* erkrankten Kiefern zu ersehen. Die Erkrankung äußert sich im Absterben und Verharzen des Gipfels, welcher als „Kienzopf" bezeichnet wird. Das sehr harzreiche Holz wird als „Kienholz" zum Feueranmachen verwendet, von armen Leuten gesammelt und verkauft. Es ergab sich in den zum Plänterbetriebe eingerichteten Kiefern-, Buchen- Mischwaldungen bei Eberswalde folgendes Vorkommen von Kienzopf tragenden Kiefern im Plänterwaldschlage:

Jagen 135	mit 5,6 ha	ergab von 389	gefällten Kiefern	87 = 22	Proz. mit Kienzopf
135	„ 3,3 „	„ „ 114	„	„ 51 = 45	„ „ „
172	„ 8,3 „	„ „ 293	„	„ 99 = 34	„ „ „

Die Wirkung des Pilzes ist ein Töten der Rinde, des Cambiums und des Holzparenchyms. Die austrocknenden Holzmembranen werden von Harz imprägniert, so daß verkiente Holzscheiben glasig erscheinen und Licht durchlassen. Das Harz durchdringt die Wände und füllt die Lumina. Es stammt natürlich aus den noch lebenden Holzteilen, welche fortgesetzt Harz produzieren und deren Zellen das Harz unter Turgordruck fortpressen. Der Kienzopf geht so bei der Holznutzung verloren, das harzreiche, leicht brennbare Kienholz findet eine besondere Verwendung. *Aecidium elatinum* (vgl. HECK [1]) verursacht Hypertrophien an den Stämmen der Weißtanne. An den oft riesigen Beulen oder „Krebs"-stellen platzt die Rinde auf und es siedeln sich hier holzzersetzende Pilze an, so besonders *Polyporus Hartigii* und *Agaricus adiposus* (vgl. TUBEUF [3]); der Sturm bricht dann leicht die so geschwächten Bäume. Die krebsigen Baumstämme werden technisch zu Brettware unbrauchbar und meist auch als Balkenholz entwertet. Es entsteht durch diese Pilzkrankheit ein oft ungeheurer Nutzholzausfall.

Die **Wundparasiten** unterscheiden sich dadurch von den reinen Parasiten, daß sie in unverletzte Pflanzenteile nicht einzudringen vermögen. Sie sind hauptsächlich Holzbewohner, welche das Holz infizieren, sobald dasselbe durch irgend eine Verletzung der schützenden Rinde bloßgelegt ist. Sie sind als Parasiten dadurch charakterisiert, daß sie sich im Holzkörper der lebenden Stämme ausbreiten und die lebenden Zellen des Holzes zum Absterben bringen. Andererseits sind sie leicht auf totem Substrat zu kultivieren. Zu den Wundparasiten gehört das große Heer der Polyporeen und Agaricineen nebst anderen Hymenomyceten. Zu ihnen sind aber auch verschiedene Pilze aus anderen Familien zu zählen, so besonders einige Ascomyceten, wie *Nectria cinnabarina, N. ditissima, N. Cucurbitula, Cucurbitaria Laburni, Valsa oxystoma.* Diese Pilze vermögen sich saprophytisch weiterzuentwickeln und bilden an entgipfelten und gestürzten Stämmen oft noch zahlreiche Fruchtkörper. Sie sind in den pflanzenpathologischen Hand- und Lehrbüchern, besonders bei HARTIG (4), TUBEUF (1), ROSTRUP (1), eingehend behandelt. Die Art ihrer Holzzerstörung ergibt sich aus der Darstellung des allgemeinen Teiles. Ihr Schaden ist oft ein sehr beträchtlicher, wie eine in Eberswalde angestellte statistische Erhebung z. B. für das Auftreten von *Trametes Pini* ergibt: „Im Choriner Revier ist auf einer Waldfläche von 60 ha ein Schaden von 48000 Mk. durch den Kiefern-Baumschwamm entstanden, d. h. der Holzertrag hätte um diese Summe von 48000 Mk.

mehr betragen, wenn der Schwamm nicht soviel Holz zerstört hätte. Eine weitere Ermittlung ergab, daß in der Oberförsterei Eberswalde mit zusammen 187 ha ein Verlust von 36000 Mk. entstanden ist." *Trametes Pini* macht aber das Holz für Balken wie Bretter untauglich (vgl. 5 *Fig. 43* u. *44* auf S. 293 u. 294). Einen quantitativ sehr großen Schaden verursacht auch der Zunderschwamm (*Polyporus fomentarius*) an Buchenstämmen. Finanziell ist hier der Schaden nicht so sehr ins Gewicht fallend, weil das Buchenholz größtenteils nur als Brennholz Verwendung findet. Der Pilz ist in den Kulturwaldungen relativ selten 10 geworden, da die Abräumung aller absterbenden Stämme eine üppige Fruktifikation hindert und da hier auch seltener wie im Urwalde Verwundungen als Eingangspforten für die Pilzsporen entstehen. Die Fruchtkörper werden zu Zunder verarbeitet und dieser zu Mützen und Westen und als Ersatz von Leder zu allerlei Gegenständen verwendet. 15 Von besonderer Bedeutung ist *Polyporus vaporarius*, weil er, schon im Innern lebender Bäume vegetierend, mit dem oft scheinbar gesunden Holze aus dem Walde kommt und so mit alsbald verwendeten Hölzern in die Bauten gelangt. Auch ist anzunehmen, daß er Stämme, welche längere Zeit im Walde lagern, infizieren kann und, in seinen Anfangs- 20 stadien unerkannt, mit dem Holze aus dem Walde wandert. Als ein Zerstörer des Bauholzes wird er im § 85 noch eingehender behandelt werden. Genauer studiert sind besonders die das Stammholz der Bäume zerstörenden Arten: *Stereum hirsutum* und *St. frustulosum* an Eiche, *Hydnum diversidens* an Eiche und Buche, *Polyporus igniarius* an ver- 25 schiedenen Laubhölzern, *P. fomentarius* besonders an der Buche, *P. sulphureus* an Lärche, Eiche, Esche und an vielen anderen Laubhölzern, *P. borealis* an Fichten, *P. dryadeus* an Eiche, *P. hispidus* an Eschen, Obstbäumen usw., *P. annosus* und *Trametes Pini* an Nadelhölzern. Zahlreiche andere sind in der angegebenen Literatur behandelt. (Siehe be- 30 sonders auch die Arbeiten Schrenk's.)

Die **Saprophyten** spielen am stehenden Holze eine technisch weniger schädliche Rolle, da die von ihnen zerstörten Holzteile bereits aus anderen Ursachen abgestorben sind. Ihre Bedeutung ist mehr eine nützliche dadurch, daß sie den Zerfall und Abfall der bei der natür- 35 lichen Reinigung im Walde, also aus Lichtmangel absterbenden Aeste der tieferen Baumteile sowie der aus anderen Ursachen getöteten Gipfel, Aeste, Stämme und die Zersetzung der „Stöcke" bewirken. Sie siedeln sich aber auch zum Teil an partiell getöteten Stamm- und Wurzelstücken an und bewirken deren Zerfall; so sieht man z. B. an den vom 40 Sonnenbrand getöteten Seiten stehender Buchen alsbald *Panus stipticus* oder *Schizophyllum commune* in ganzen Rasen auftreten. Die Zahl dieser egalisierenden Saprophyten ist eine außerordentlich große, ohne daß ihre Biologie und die Art ihrer Holzzersetzung genaueren Studien unterworfen worden wäre. Mit einer Zusammenstellung einiger Gruppen derselben 45 hat Hennings (1) begonnen. Sie gewinnen an Bedeutung, wenn sie an roh verwendetem oder verarbeitetem Holze auftreten, wie das z. B. *Daedalea quercina* häufig tut. Es sind vielfach dieselben holzbewohnenden Pilze, welche man auf toten Bäumen im Walde oder an Zäunen, auf den Holzkübeln der Gewächshäuser, an den Holzmassen der Trifthöfe 50 und Lagerplätze usw. findet, und es kommen dabei nicht bloß die Hymenomyceten mit ihren großen Fruchtkörpern sondern auch eine Menge anderer Pilze, so besonders Pyrenomyceten wie z. B. die Xylarien, und auch viele Myxomyceten in Betracht. Nur wenige sind etwas näher

untersucht und fast keiner ist in künstlicher Kultur auf sein physiologisches und biologisches Verhalten geprüft. Einige aber zeichnen sich durch besondere Verfärbungen der zersetzten Hölzer oder durch die Fähigkeit zu leuchten aus und verdienen daher besondere Beachtung, so die Pilze der Grünfäule und die sog. Leuchtpilze. 5

Die **Grünfäule** des Holzes (vgl. CASPARY [1], DE BARY [1], VUILLEMIN [1]) findet man seltener am Holze stehender Bäume als an Holzstücken, die schon längere Zeit am Waldboden liegen oder auch an alten dürren Aesten. Sie ist dadurch charakterisiert, 10 daß die Holzmembran sowohl wie der das Holz bewohnende Pilz grün gefärbt ist. Der grüne Farbstoff ist durchaus lichtbeständig und würde, wenn er in großen Mengen zu beschaffen wäre, vielleicht tech- 15 nisch wertvoll sein. Wie das Mycel sind auch die Schüsselfrüchte (s. *Fig. 49*) des die Grünfäule veranlassenden Pilzes, *Peziza aeruginosa* = *Helotium aeruginosum*, von grüner Farbe. Neuerdings unterscheidet 20 man zwei Arten: *Chlorosplenium aeruginosum* und *Chlorosplenium aeruginascens*, welche die Grünfäule des Holzes veranlassen. Diese Erscheinung tritt an verschiedenen Holzarten auf: bei uns wird sie besonders 25 häufig an Buchen und Eichen, jedoch auch an Birken und Nadelhölzern beobachtet. Praktische Bedeutung hat sie nicht. Wie die grüne Verfärbung des Holzes treten auch andere Verfärbungen des Holzes durch 30 holzbewohnende Pilze auf, so z. B. die Rotfärbung, welche durch das rotfarbige Mycel von *Trametes cinnabarina* verursacht wird. Dieser Pilz findet sich an Holzstücken, die schon lange am Waldboden 35 liegen, und an abgestorbenen, wenn auch noch stehenden Stämmen. Er ist ebenso wie der Pilz der Grünfäule ohne praktische Bedeutung. Sehr auffallend erscheinen auch rindenlose Aststücke mit 40 tief schwarzer Oberfläche, während der ganze Holzkörper durch eine Weißfäule zersetzt ist. Die Aststücke sehen aus, als ob sie lange Zeit in Tusche gelegen hätten, und man ist beim Zerbrechen derselben er- 45 staunt, daß der Farbstoff nur oberflächlich zu finden ist. Ich vermute, daß diese Erscheinung von Xylarien-Mycel herrührt, doch wäre dies noch näher zu untersuchen.



Fig. 49. Ein Stück grünfaules Eichenholz mit den schüsselförmigen Fruchtkörpern der *Peziza aeruginosa*. — Auf die Hälfte verkleinert. Nach VON TUBEUF.

Das **Leuchten des faulen Holzes** war zufolge MOLISCH (1) schon 50 im Altertum bekannt, wurde aber erst von RETZIUS und HUMBOLDT auf Pilze zurückgeführt. Es wird am meisten an stark zersetzten, absterbenden oder abgestorbenen Stämmen, an gefallenem Holze und an Baum-

stümpfen beobachtet. Der zuerst beobachtete Leuchtpilz war *Agaricus olearius*, den BATTARA um die Mitte des 18. Jahrhunderts als *Polymyces phosphoreus* beschrieb und der schon früher von MICHELI erwähnt wurde. In den Bergwerken haben schon im Jahre 1796 FREYESLEBEN, in den Gruben von Freiberg, und im Jahre 1822 DERSCHAU und NÖGGERATH in Steinkohlengruben am Rhein das Leuchten bemerkt. Vermutlich verursachte es *Agaricus melleus*, der häufig in Bergwerken vorkommt und bei uns der häufigste Leuchtpilz und die gewöhnliche Ursache des leuchtenden Holzes im Walde ist. Das Licht dieser und verschiedener anderer Arten hat LUDWIG (2) spektroskopisch untersucht und dabei Verschiedenheiten für die einzelnen Arten gefunden (vgl. auch MOLISCH [1]). HARTIG (4), der zuerst die Zugehörigkeit der *Rhizomorpha subterranea* und *Rh. subcorticalis* zu *Agaricus melleus* entdeckte, konnte später den leuchtenden Rand einer von *Agaricus melleus* zersetzten Ahornscheibe in der Dunkelkammer photographieren (s. *Fig. 50*). Künstliche Reinkulturen des *Agaricus melleus* hat zuerst BREFELD (1) gemacht und dabei auch die Rhizomorphen dieses Pilzes erzogen, welche in der künstlichen Kultur leuchteten:

Fig. 50. Ahornscheibe, zersetzt von *Agaricus melleus*, in der Dunkelkammer beim Scheine des selbstleuchtenden Scheibenrandes photographiert. — Scheibendurchmesser: 46 cm. Nach HARTIG.

MOLISCH (1) kultivierte denselben Pilz neuerdings bis zur Fruchtkörperbildung (s. *Fig. 51*), was BREFELD nicht gelungen war. Der letztgenannte Forscher sagt von seinen künstlichen Kulturen der Hallimasch-Rhizomorphen, daß nur lebende Hyphen von jungen Rhizomorphensträngen, die frei mit der Luft in Berührung kommen und noch keine cuticularisierten Membranen besitzen, phosphoreszieren. Ob sie wüchsen, d. h. an Dimensionen zunähmen, scheine unwesentlich zu sein, denn die Hyphen leuchteten wochenlang, während sie nicht kenntlich länger wurden. Die Lichterscheinung dauerte auch in Räumen von 1—2° C ohne merkbare Abnahme fort. MOLISCH fand auch, daß nur junge Rhizomorphen leuchten; alte, mit Rinde versehene leuchten nicht mehr, und junges lockeres Mycel leuchtet auch nicht. Seine Reinkulturen leuchteten monatelang. PFEFFER (1) weist darauf hin, daß im Leuchten eine physiologische Leistung in die Erscheinung tritt, die wie andere physiologische Leistungen durch den Energieumsatz im Betriebsstoffwechsel erzeugt und demgemäß auch im Dunkeln realisiert wird. Bei den Pilzen ist das Leuchten daher an

eine bestimmte Entwicklungsphase gebunden und auf bestimmte Organe beschränkt. Das Temperaturoptimum liegt für das Leuchten des Hallimasch nach Ludwig bei 25–30° C, das Minimum bei 1—3° C. Sauerstoff ist zum Leuchten notwendig. Ein von Molisch kultiviertes Mycelium leuchtete in künstlicher Kultur zwichen 1 und 34° C, am lebhaftesten bei 15—25° C und erlosch bei 36° C. Nach Molisch ist das Leuchten stets auf den Pilz beschränkt und erfolgt intracellular. Es entsteht wahrscheinlich ein Photogen innerhalb der Zellen, welches bei Gegenwart von freiem Sauerstoff (wenn auch in geringerer Menge) und Wasser leuchtet. Eine direkte Beziehung zwischen Atmung und Lichtentwicklung ist nicht anzunehmen.



Fig. 51. Agaricus melleus Vahl. Reinkultur mit drei Fruchtkörpern im Erlenmeyerkolben auf Brot. — Nach Molisch.

Eine Zusammenstellung der phosphorescierenden Pilze hat Ludwig (2 u. 3) gegeben. Nach derselben wurde bei folgenden Pilzen Phosphorescenz beobachtet: 1. Pilze, deren Fruchtkörper (Lamellen mit Hymenium oder ganzem Hut oder Stiel) leuchten: *Agaricus (Pleurotus) olearius* DC. im südlichen Europa, *A. Gardneri* Berk. in Brasilien, *A. igneus* Rumph. auf der Insel Amboina in Ostindien, *A. (Pleurotus) noctilucens* Lév. auf der Insel Manilla, *A. (P.) lampas* Berk. in Australien, *A. Emerici* Berk. auf den Andamaneninseln, *A. (P.) candescens* Müll. in Australien, *Clitocybe illudens* (Schwein.) in Nordamerika, *A. socialis* Fr. (= *Collybia tabescens* Fr.) in Südeuropa, *A. acerbus* Fr. (*Tricholoma acerbum* Bull.) in Europa, *A. (Panus) incandescens* B. et Br. in Australien, *Polyporus noctilucens* und *P. citrinus* Lagerh. in Angola, *Corticium coeruleum* (Schrad.) Fr. = *Auricularia phosphorea* Sch., *Ileodictyon cibarium* Tul. in Neu-Seeland, *Kalchbrennera corallioides* (*K. Tuckii* Berk.) in Afrika. 2. Pilze, deren Mycel (im sog. faulen Holze)

und deren junge Rhizomorphen leuchten: *Agaricus melleus* Vahl an Laub- und Nadelholz in Europa, *Xylaria Hypoxylon* und *X. polymorpha* Pers. in Buchenholz. 3. Pilze, deren Sklerotien leuchten: *Agaricus* (*Collybia*) *tuberosus* (Bull.), *Agaricus* (*Collybia*) *cirrhatus* Pers. 5 und *A. longipes* Scop. in Europa. — Zu diesen fügt Henning's (1) als Leuchtpilze hinzu: *Pleurotus nidiformis* und *P. phosphoreus* in Australien, *P. Prometheus* Berk. in Hongkong, *Omphalia Martensii* Henn. in Borneo, *Locellinia illuminans* Henn. in Celebes und *L. noctilucens* Henn. in Neu-Pommern, *Mycena illuminans* Henn. nach Volkens 10 auf Java. — Nach den Untersuchungen von Molisch sind die *Xylaria*-Arten sicher aus der angegebenen Liste zu streichen, und bei folgenden Arten erscheint die Leuchtfähigkeit zweifelhaft und wäre erst noch näher zu prüfen: *Trametes Pini* Fr., *Polyporus sulphureus* Fr., *P. citrinus* (= *candicinus* Schaeff.) Schröt., *P. annosus* Fr. (= *Trametes radiciperda* 15 Hart. = *Heterobasidium annosum* Bref.), *Agaricus* (*Collybia*) *longipes* Scop., *Corticium coeruleum* (Schrad.) Fr. (= *Auricularia phosphorea* Sch.), während er bei den in vorstehender Liste gesperrt gedruckten Arten das Leuchten als sicher annimmt. — Ludwig (2 u. 3) gibt Rhizomorphen für *Trametes Pini* und für *Polyporus igniarius* und Phosphorescenz für den ersteren 20 an, bezweifelt sie aber schon für den letzteren und für *Polyporus sulphureus* wie auch für *P. annosus*. Für *Polyporus annosus* werden neuerdings Rhizomorphen angegeben, eine Phosphorescens aber nicht erwähnt. Molisch fand auch, daß die auf dem Humus der Eichen- und Buchenwälder in Verwesung begriffenen Blätter leuchten und daß die sie 25 zersetzenden Leucht-Pilzmycelien eine ganz allgemeine Verbreitung haben.

Das Ersticken und die Zersetzung des Buchenholzes soll hier mit ein paar Worten noch besprochen werden. Die parasitären Zersetzer lebender Buchenstämme sind zum Teile von Hartig (1) be- 30 arbeitet worden. Das gefallene und das gefällte Holz, die Buchenstümpfe, die nicht imprägnierten Schwellen und das Brennholz werden von einer Reihe von Pilzen zersetzt, die es teils auf die reiche Stickstoffnahrung der zahlreichen Parenchymzellen, teils auf die Stärke und die Membranen abgesehen haben. Tuzson (1), der die Bildung des falschen Buchen- 35 kernes in Beziehung zu der Tätigkeit von *Stereum purpureum* Pers., *Hypoxylon coccineum* Britz. *Schizophyllum commune* Fr. und *Stereum hirsutum* (Willd.) zu bringen sucht, hat eine Anzahl von Pilzen zusammengestellt, welche das Ersticken und sonstige Zersetzungen des Buchenholzes am häufigsten bewirken; so *Stereum purpureum* Pers., *Hypoxylon* 40 *coccineum* Bull., *Bispora monilioides* Corda, *Tremella faginea* Britz., *Schizophyllum commune* Fr., *Polyporus versicolor* (L.), *P. hirsutus* (Schrad.) als Verursacher einer Weißfäule und *Polyporus vaporarius* Fr., *Trametes mollis* (Sommerf.), *T. stereoides* Fr. = *Daedalea mollis* Som. als Veranlasser einer Rotfäule. Vgl. hierzu auch Herrmann (1).

45 § 83. Die Zerstörung des gefällten Holzes.

Sobald der Baum gefällt ist, beginnt für ihn die Gefahr der Infektion in den bei der Fällung bloßgelegten Holzkörper. Diese Gefahr wird um so größer, je länger die Zeitdauer zwischen der Fällung des Baumes und seiner Verarbeitung zu Balken oder Brettern ist, und sie

wird größer, wenn diese Zeit in die Vegetationsperiode fällt, in welcher infizierende Pilze alsbald wachsen und sich vermehren können.

Würde der gefällte Stamm sofort zur Sägemühle gebracht und zerschnitten, so wäre eine Infektion nicht zu befürchten. Dies erscheint aber meist schon wegen der hohen Transportkosten untunlich. Man 5 sucht die Stämme mit Rücksicht auf die in frischer Rinde sich alsbald ansiedelnden Käfer und behufs schnellen Austrocknens möglichst zu entrinden. Das entrindete Holz lagert eine Zeitlang im Walde, verliert dabei sehr viel von seinem Wassergehalt und ist somit leichter zu transportieren (HARTIG [6]). 10

Die Zeit der Lagerung im Walde ist wesentlich verschieden nach der Fällungszeit. Wird das Holz, wie es in schneereichen Gebieten, also im Gebirge, der Fall ist, im Sommer gefällt, dann lagert es im Walde bis die Schneeverhältnisse des nächsten Winters seinen Transport zu Tal ermöglichen. Bei der in der Ebene üblichen Winterfällung ist 15 das Holz dem Beginn der Zersetzung durch Pilze im Walde weniger ausgesetzt. Die Infektion erfolgt bei feuchtem Wetter auf 20 der Oberfläche der Stämme und den Schnittflächen, sonst in den sich beim 25 Trocknen bildenden Schwindrissen. Besonders ist das Holz der 30 Infektion ausgesetzt, wenn es, statt luftig auf Unterlagen, längere Zeit 35 direkt auf dem Boden aufliegt. Es sind vor allem die Erscheinungen 40 der Trockenfäule und der Rotstreifigkeit der Bretter und Balken auf Pilzinfektion während der Lagerzeit im Walde zurückzuführen. Diese Zersetzungen beginnen daher auch stets von den Schwindrissen aus (s. *Fig. 52*). Wie weit die Fällungszeit infolge der Verschiedenheiten 45 der Nährsubstanzen im Holzkörper von Einfluß auf die Schnelligkeit der Zersetzung ist, wurde noch nicht näher untersucht. Es scheint ein solcher Einfluß bei den spezifischen Holzzersetzern auch nicht zu bestehen (HARTIG [6]). Dagegen dürfte ein im Safte geschlagenes Laubholz infolge des größeren Zuckergehaltes im Splintholze mehr saprophytische 50 Pilze anlocken und ernähren als ein im Winter gefälltes, wenn das Parenchym voll Oel oder Stärke sitzt. Daß aber alle möglichen Pilze, selbst Schimmelpilze, in das Holz einzudringen vermögen, ist von

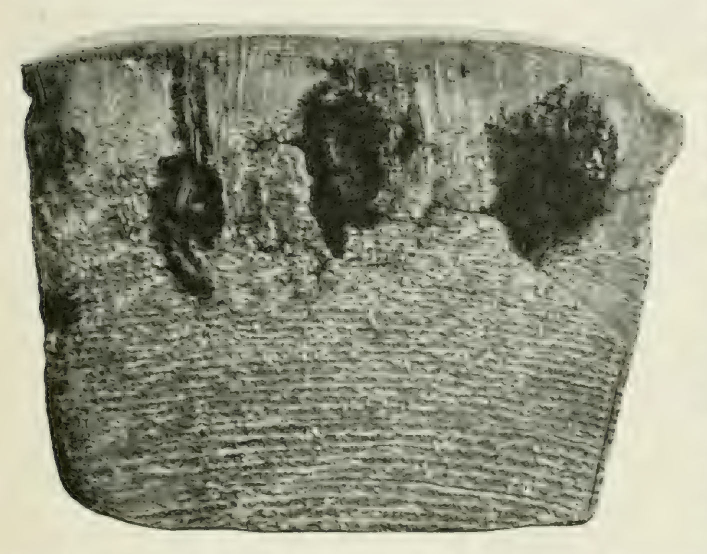


Fig. 52. Balkenkopf mit Schwindrissen, von denen aus die Infektion begann und die Rotstreifigkeit sich ausdehnte. — Auf ungefähr drei Viertel verkleinert. Nach VON TUBEUF.

Miyoshi experimentell erwiesen. So zeigt im Safte gefälltes Buchenholz nach dem Lagern im Walde oft eine ganze Musterkarte von Pilzen und fällt bald den im vorigen Abschnitte benannten Pilzen zum Opfer. In dieser Richtung wären Untersuchungen über die Fällungszeit unter Berücksichtigung der Arbeiten von Russow und A. Fischer über die Perioden an Fett- und Stärkegehalt der Hart- und Weichhölzer wünschenswert. Das Flößen und Triften des Holzes ist insofern von Bedeutung, als hierbei das Holz sich wieder voll Wasser saugt und dadurch Pilzsporen zum Keimen bringen kann, welche vorher in Schwindrisse eingeweht worden waren. Dieses Holz ist auch besonders der Rotstreifigkeit ausgesetzt, wenn es nicht alsbald nach der Trift zersägt und somit zum Trocknen gebracht werden kann (s. Hartig [6]).

Eine besondere Erkrankung des im Walde lagernden Kiefernholzes ist das **Blauwerden** des Splintes. Dasselbe wird durch die Infektion eines Pilzes, *Ceratostomella pilifera* (Fr.) Winter,[1]) veranlaßt. Dieser siedelt sich bei feuchtem Wetter an den Schnittflächen und unter der Rinde im Safte gefällter Kiefern an, dringt in die Markstrahlen und verbreitet sich von hier aus weiter im Splintholze, eine blauschwarze Verfärbung der befallenen Teile nach sich ziehend. Sehr gerne dringt er in den Gängen von Borkenkäfern bei stehenden Bäumen ein, welche infolge von Raupenfraß abstarben.

Dieselbe Erscheinung beschreibt neuerdings Schrenk (1) für *Pinus ponderosa*, bei welcher der Pilz in die Gänge von *Dendroctonus ponderosae* Hopk. eindringt. Auch bei dieser Kiefer bleibt der Kern von dem Pilze verschont. Da der Pilz die Holzware auf alle Fälle unansehnlich macht, ist diese schwer noch verwertbar, wenn auch, wie Rudeloff (1) fand, die Druckfestigkeit des Holzes kaum beeinflußt wird. Nach Rudeloff greift der Pilz nämlich die Herbstholzplatten nahezu gar nicht an und diese sind es im wesentlichen, welche die Druckfestigkeit des Kiefernholzes bewirken. Die Wirkung auf andere technische Eigenschaften (bei Biege- und Spaltversuchen) wurde nicht geprüft und dürfte eine ungünstige sein. Schrenk fand, daß das Blauholz mehr Widerstand gegen Druck und Bruch zeigte wie frisches Holz und daß die abgestorbenen Stämme mit blauem Holze schwerer zu fällen waren als frische, was aber hier von dem Unterschiede des trocken gewordenen Blauholzes gegenüber dem saftreichen frischen Holze herrührt.

Der Blaufäulepilz besitzt ein graubraunes Mycel und die von ihm befallenen Hölzer erscheinen in frischem d. h. feuchtem Zustande rauchgrau; wenn sie aber trocken sind, haben sie ein bläuliches Aussehen. Das sehr derbe Mycel wächst der Hauptmasse nach im Parenchym, bei der Kiefer also im Parenchym der Markstrahlen und der Harzkanäle des Holzes (s. *Fig. 53*). Man sieht aber auch einzelne Hyphen im Lumen der Tracheiden und die Wandung durchbrechend von einer Tracheide zur anderen wachsen. Der Pilz hat es offenbar auf die Zellinhaltsstoffe des Parenchyms abgesehen und macht nur feine Wanddurchbohrungen. Das Blauwerden ist durch schnelles Entrinden und Trocknen der gefällten Stämme und durch rechtzeitige Fällung der von Insekten kahlgefressenen Bäume zu vermeiden. Die größte Sicherheit bietet es, möglichst bald nach der Fällung die Hölzer auf der Säge zu verarbeiten

[1]) *Ceratostomella pilifera* (Fr.) Winter = *Sphaeria pilifera* Fries = *Ceratostoma piliferum* (Fr.) Fuckel. Die Gattung *Ceratostomella* hat hyaline, die Gattung *Ceratostoma* hingegen braune Sporen.



1.



2.



3.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel VIII: Merulius lacrymans.

Fig. 1. Aelterer auf horizontalem Brette aufliegender, nur zentral angehefteter Fruchtkörper des Hausschwammes mit zentrifugal sich ausbreitender, noch im Wachsen begriffener Randzone. Hymenialschichte netzförmig eben, an einigen Stellen an knollenförmigen Erhöhungen herauflaufend. — Fast zwei Drittel d. natürl. Größe.

Fig. 2. Graues Hausschwamm-Mycel auf der Unterseite eines Fußbodenbrettes, welches durch Schwindrisse in rechteckige Stückchen zerfällt. — Etwa ein Achtel d. natürl. Größe.

Fig. 3. Vertikal aus einem Türstock hervorwachsender Fruchtkörper des Hausschwammes, dessen innerer Teil etagenförmige Auswüchse mit vertikal stehenden, fast röhrenförmigen Hymenialfalten bildet, während der sterile Rand noch in der Entwicklung begriffen ist. — Ein Drittel d. natürl. Größe.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel IX: Polyporus vaporarius und Merulius lacrymans.

Fig. 4. Krustenförmig entwickelte Fruchtkörper von *Polyporus vaporarius.* Das Holzstück zeigt tiefe Schwindrisse. — Natürl. Größe.

Fig. 5. An einem Deckbalken entwickelte, knollenförmige Fruchtkörper von *Polyporus vaporarius* mit grubigen Vertiefungen, welche durch Umwachsen anhängender Tropfen entstanden sind. — Etwa ein Zehntel d. natürl. Größe.

Fig. 6. Weiße, dendritisch verästelte Mycelstränge von *Polyporus vaporarius.* — Ein Sechstel d. natürl. Größe.

Fig. 7. Graue Mycelhäute von *Merulius lacrymans* mit derben Rhizomorphensträngen. — Ein Sechstel d. natürl. Größe.



4.



5.



6.



7.

Verlag v. Gustav Fischer, Jena



und die Bretter luftig aufzusetzen. Eine Aufbewahrung der frischen Hölzer in Bassins unter Wasser dürfte ebenfalls Schutz bieten. Nach SCHRENK's (1) Ansicht werden die gesunden Gelbkiefern (*Pinus ponderosa*) von den Borkenkäfern befallen und zwar im Juli bis September.



Fig. 53. Ein Stück Kiefernholz (mit Ueberwallungswulst über Specht-Einhieben). Die Markstrahlen und Harzkanäle erscheinen schwarz durch das Mycel der *Ceratostomella pilifera.* — Auf ungefähr drei Viertel verkleinert. Nach VON TUBEUF.

Rinde und Cambium beginnen im Sommer abzusterben. Die Belaubung fängt erst im folgenden Frühjahr an, sich zu verfärben und zu welken. Im Mai erscheinen die Nadeln schon gelblich, dann werden sie bis zum zweiten Winter rotbraun und fallen allmählich ab. Der Blaupilz dringt alsbald schon in die Bohrlöcher der Borkenkäfer im unteren Stammteil bis zum Kern, dann wird auch das Gipfelholz blau. Die entnadelten Stämme sterben ab, die Rinde löst sich los und das Holz trocknet an den Sonnenseiten. In feuchten Lagen und im dichten Bestande bleibt das Holz feucht und fällt nun dem Rotfäulepilz, *Polyporus ponderosus* SCHR., zum Opfer.

Dieser bewirkt eine völlige Zersetzung des Holzes und macht es unbrauchbar zur Verwendung als Schwellen, in Bergwerken und als

Brennholz. Der Blaufäulepilz verursacht eine solche Zersetzung nicht. Er tritt erst in Flecken und Streifen (s. *Fig. 54*) von den Käferlöchern aus auf und zeigt sich schon einige Wochen nach dem Käferbefall besonders in den unteren Stammteilen. Nach drei Monaten ist der ganze 5 Splint blau.

Die schwarzen Perithecien sind lange geschnäbelt und entstehen auf der Holzoberfläche der Stämme und unter der gelockerten Rinde. Nach SCHRENK (1) wächst das Mycel sehr schnell auf Nähragar oder Nährgelatine oder Kiefernholzagar und bildet nach einer



Fig. 54. Kiefernscheibe mit den Anfängen der Blaufäule, die radiale Bänder im Splinte verfärbt. — Durchmesser der Scheibe 18 cm. Nach VON TUBEUF.

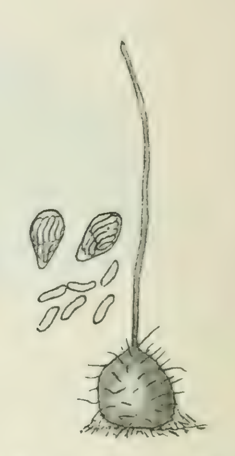


Fig. 55. Perithecium, Asken und Ascosporen der *Ceratostomella.* — Nach SCHRENK.

10 Woche schon Perithecien auf der Oberfläche der Agarschichte. Die Ascosporen keimen in wenigen Stunden, und das farblose Mycel hat in 2—3 Tagen zahlreiche Konidien gebildet; diese geben wieder ein Mycel, welches Konidien und Perithecien bildet. In 4—5 Tagen färbt sich das Mycel grau und in 7—9 Tagen entstehen junge Perithecien; diese, erst 15 hyalin, dann braun und schließlich schwarz, werfen in 12—13 Tagen Ascosporen aus den Schläuchen. In 21 Tagen waren fast alle Perithecien reif. Das Peritheciengehäuse hat ca. 180 μ im Durchmesser in der Breite und ca. 160 μ in der Höhe. Der im Reifezustand sehr spröde Hals ist ca. 1050 μ lang und 20 μ dick. Die Sporen sind länglich und 20 schwach gekrümmt, 5,5 μ lang und 2,5 μ breit. Sie werden in verkehrt breiteiförmigen Schläuchen gebildet und treten aus dem Perithecienhals in langen Ranken aus (s. *Fig. 55*).

§ 84. Die Zerstörung des verarbeiteten Holzes durch Merulius lacrymans, den echten Hausschwamm.

Am genauesten bekannt und am meisten als Zerstörer des Bauholzes gefürchtet ist der echte Hausschwamm, *Merulius lacrymans* Jacq., syn.: *M. destruens* Pers. und *M. vastator* Tode (s. Hartig-Tubeuf [2]).

Der Hausschwamm ist im Walde erst in wenigen Fällen und zwar bisher nur als Saprophyt an toten Holz- und Borkenteilen beobachtet worden (Tubeuf [4]). Er hat sich aber in den europäischen Städten ungemein verbreitet und ist förmlich eingebürgert. Hier wird er offenbar immer wieder in Neubauten und bei Reparaturen eingeschleppt. Seine Entwicklung ist da ermöglicht, wo das Holz nicht trocken wird, so besonders da, wo das Holz direkt auf der Erde lagert, in Kellern, Parterreräumen, Gewächshäusern, Ställen, Lagerschuppen, in der Nähe undichter Wasserleitungen, in Aborten, Baderäumen usw. Das vornehmste Mittel seiner Vorbeugung besteht daher in der Trockenerhaltung allen Holzwerkes bei den Bauten. Es ist demnach Verwendung trockenen Baumateriales (Füllmaterial, Bretter und Balken, Steine) und Trockenerhaltung durch Fürsorge von Durchlüftung, Unterkellerung, gute Bedachung usw. anzustreben. Wo Trockenheit aber nicht erreichbar ist, muß auf die Verwendung von Holz verzichtet werden, und es tritt an seine Stelle Beton, Asphalt, Zement, Gips, Stein und Eisen. Die ausgedehnte Verwendung dieser Baumittel im Hausbau, besonders in Kellern und Parterreräumen, tragen sehr zur Verminderung des Hausschwammes und anderer Zerstörer des Bauholzes bei. Die Schnelligkeit des Bauens mit feuchten Balken und Steinen, frühzeitiges Verputzen der feuchten Mauern, baldiges Streichen der Böden oder Parquettieren erleichtert die Vegetation des Schwammes. Die Infektion erfolgt durch Verschleppung mycelhaltiger Holzteile, besonders mit Füllmaterial, Blindbrettchen usw., durch Sporen und Gemmen. Es ist demnach Material aus Bauten mit Hausschwamm nicht als Füllmaterial usw. wieder zu benützen.

Die Sporen des Hausschwammes werden von feinen Sterigmen auf den keulenförmigen Basidien (vgl. Bd. I. S. 194 u. 219) der Fruchtkörper abgeschnürt. Meist bildet jede Basidie vier Sterigmen mit je einer Spore. Die Sterigmen enden in eine farblose, kleine, knopfförmige Verdickung, welche mit der Spore verbunden abfällt (s. *Fig. 56*). Die Sporen haben eine bräunlich-gelbe Farbe und im Längsschnitt die Gestalt eines länglichen, auf der einen Seite abgeflachten oder eingesenkten Ovales von ca. 10 μ Länge und ca. 5 μ Breite. Beim Trocknen und bei Behandlung mit Alkohol oder Glycerin sinkt die kurze Seite noch stärker ein. Unter den Fruchtkörpern findet man die abgeworfenen Sporen als braunes Pulver. Am Fruchtkörper haben sie teils nur eine helle zentrale Partie, teils mehrere Fettröpfchen; nach Möller (1) sind nur Sporen der ersteren Art keimfähig. Nach Hartig (2) haben keimende Sporen

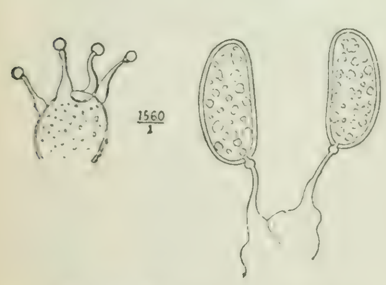


Fig. 56. Merulius lacrymans. Spitze einer Basidie mit den vier Sterigmen und soeben entstehenden jungen Sporen. Daneben zwei auf Sterigmen sitzende ausgebildete Sporen. — Vergr. 1560. Nach Hartig.

homogenen Inhalt ohne Fettröpfchen. Der Keimschlauch (s. *Fig. 57*) tritt bei künstlicher Kultur meist an der Ansatzstelle der Spore, jedoch auch daneben hervor und bildet ein Mycel (s. *Fig. 58*), welches leicht weiter zu kultivieren ist. Man erhält einzelne Keimungen auf gewöhnlicher saurer Fruchtsaftgelatine oder Malzextraktlösung. Es scheint aber das Keimprozent sehr von dem Alter und Zustande des Fruchtkörpers abhängig zu sein. Nach HARTIG's, von MÖLLER und dem Verfasser bestätigter Erfahrung übt schon bei Zimmertemperatur ein Zusatz von phosphorsaurem Ammoniak (s. weiter unten) einen sehr begünstigenden Einfluß auf die Keimung aus. Nach MÖLLER (1) bewirkt eine Temperatur von 25 ° C eine wesentliche Förderung der Keimung schon einer Temperatur von 18 ° C gegenüber. Fast allgemeine Keimung innerhalb 24 Stunden trat in Malzextraktlösung mit 1 Proz. phosphorsaurem Ammoniak bei konstanter Temperatur von 25 ° C ein, aber nur von Fruchtkörpern in bestimmtem Zustande. Die Kulturen MÖLLER's blieben ebenso steril wie schon früher die von BREFELD (1) aus Sporen gezogenen Mycelien. Ich erhielt allgemeines Keimen, d. h. Keimung der meisten Sporen im Sommer bei Zimmertemperatur von 19—22 ° C auf einer Nährgelatine von 2.5 Proz. Malzextrakt, 2.5 Proz. Liebig'schem Fleischextrakt und 1 Proz. Mono-Amoniumphosphat, statt dessen in anderen Kulturen 1 Proz. Citronensäure Verwendung fand. Der Hausschwamm wurde bis zu kleinen Mycelflöckchen,

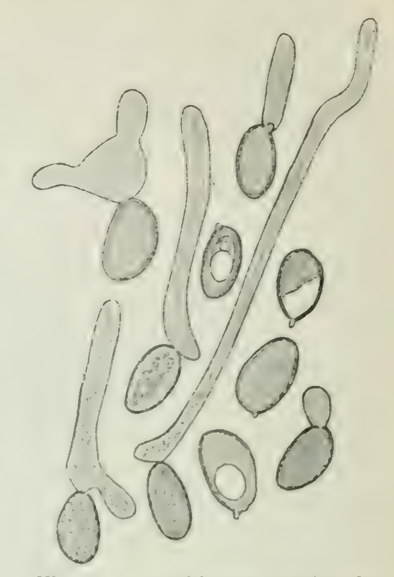


Fig. 57. Verschiedene Stadien der Keimung der Hausschwamm-Sporen. Vergr. 900. Nach VON TUBEUF.



Fig. 58. Sporenkeimung des Hausschwammes. Mikrophotographie mit einseitiger Beleuchtung und Aufhellen der photogr. Keimfäden. — Nach VON TUBEUF.

welche zahlreiche Lufthyphen mit Schnallenzellen bildeten, gezogen. Eine Weiterführung der Kultur erschien zwecklos, da ihre fernere Entwicklung aus Mycelkulturen auf Holz schon genügend bekannt war.

Aus einem vom Hausschwamm befallenen Stück Holz wächst das Mycel in jedem Feuchtraum, bei Licht wie in Dunkelheit, in Form von weißen Watten heraus (s. *Fig. 59*). War das Holzstück und der Feuchtraum nicht durch Schimmelpilze verunreinigt, dann kann man leicht von diesem Luftmycele auf künstliche Nährböden z. B. in Petrischalen abimpfen und erhält nach mehrmaligem Ueberimpfen Reinkulturen. Ein sehr brauchbarer Nährboden besteht aus 6 bis 10 Proz. Gelatine mit 2,5 Proz. Löfflund's Malzextrakt, 2,5 Proz. Liebig's Fleischextrakt und 1 Proz. kristallisierter Citronensäure. Die Bakterien werden schon durch die Säure an ihrer Entwicklung gehindert. Bei festerem Nährboden und geringen Nährstoffen wächst der Hausschwamm nicht mehr wie in der angegebenen Nährgelatine in dichten weißen Watten sondern in feinen, vielverästelten, zarten, dem Nährboden eng anliegenden Strängen (s. *Fig. 60*).



Fig. 59. Hausschwamm-Zucht auf Fichten- und Kiefernholz, zeigt ein im feuchten Raume watteartig hochgewachsenes Luftmycel. — Schwach verkleinert. Nach von Tubeuf.

In Flüssigkeiten bildet der Hausschwamm wattige, weiße Decken und bei geringem Nährstoffgehalt auch submerse gallertige Flocken. Er verträgt reichen Nährstoffgehalt, noch gut 3 Proz. Citronensäure, bis 1 Proz. konzentrierte Mineralsäuren, aber nicht alkalisch reagierende Nährlösungen. So verträgt er nach Tubeuf (2) die Phosphate des Kaliums, Natriums und Ammoniums nur in der sauren Mono-Verbindung, nicht aber in den alkalisch reagierenden Di- und Tri-Phosphaten. Bei genügender Ernährung bildet der Hausschwamm oft zwischen den normalen farblosen Hyphen noch solche von schwefelgelber Farbe. Zuweilen werden auch ganze Kulturen gelb. Der Zellinhalt scheint durch ein gelbes fettes Oel, welches durch Osmiumsäure schwarz wird, gefärbt zu sein. Eine Eigentümlichkeit der Hausschwammkulturen ist die Zonenbildung, welche von geschlossenen Myceldecken, wie sie bei genügender Nahrung entstehen, auf festen wie auf flüssigen Nährmedien gebildet werden (s. *Fig. 61*).



Fig. 60. Hausschwamm-Zucht auf weniger, gutem Nährboden, zeigt die Entwicklung in Strängen. — Nat. Gr. Nach von Tubeuf.

Bei ungenügender Ernährung wird das Mycel kreidig weiß und teilt sich in kurze Zellen, welche sich 5 nach Tubeuf (5) zu Gemmen ausbilden. Solche Gemmen entstehen nicht nur auf künstlichen flüssigen und festen Nährböden, son- 10 dern z. B. auch bei Mycel, welches vom Holze auf die Borke übergewachsen ist. Sie vertragen längere Zeit das Austrocknen und dürf- 15 ten bei der Verbreitung des Hausschwammes eine nicht unwichtige Rolle spielen können, da sie auf geeignetem Nährboden und bei 20 genügender Wärme sofort keimen und sich schnell zu Mycel entwickeln (s. *Fig. 62*).



Fig. 61. Hausschwamm-Zucht auf gutem Nährboden, die ringförmigen Zonen zeigend. — Natürl. Größe. Nach von Tubeuf.

Das Mycel des Hausschwammes ist dadurch von anderen, bekannten Holzzersetzern charakterisiert, daß es nicht nur wie andere Hymeno-

myceten sogenannte Schnallenzellen (s. Bd. I, S. 176) bildet, sondern daß diese Schnallen auch große Neigung haben, auszuwachsen. Sie tun dies (s. *Fig.* 63) in Form von Seitenhyphen, welche den Schnallen entspringen. Unter Umständen (z. B. in 2-proz. Nähragar) verlängern sich die Schnallenzellen und bleiben, ohne mit der Haupthyphe zu fusionieren, von ihr abstehend (s. *Fig.* 64).

Außer den zarten Mycelhyphen, den gelben Oelhyphen, den Dauermycelzellen oder Gemmen, und den zarten, weißen Hyphensträngen, der Entwicklung des Mycels zu hohen Watten, zu zarten Decken oder ausgebreiteten flachen, später grau werdenden Häuten, den gallertigen submersen Mycelflocken, welcher Formenreichtum die Anpassungsfähigkeit des Hausschwammes illustriert, besitzt er noch eine hoch organisierte und biologisch sehr wertvolle Mycelform in seinen **Rhizomorphen.** Diese stellen feste, elastische, oft sehr lange, wurzelartige Stränge dar, welche durch Füllmaterial, die Ritzen selbst dicker Mauern, die Risse von Balken und die Fugen der Bretter, durch Hohlräume unter den Dielen, hinter den Lambris und Verschalungen usw. wachsen und durch ihre eigenartige Organisation befähigt sind, den Hausschwamm weiterhin zu verbreiten und das Wasser von irgend einem feuchten Punkte aus selbst in trockene Hausräume fortzuleiten (s. *Taf. IX, Fig. 7*).

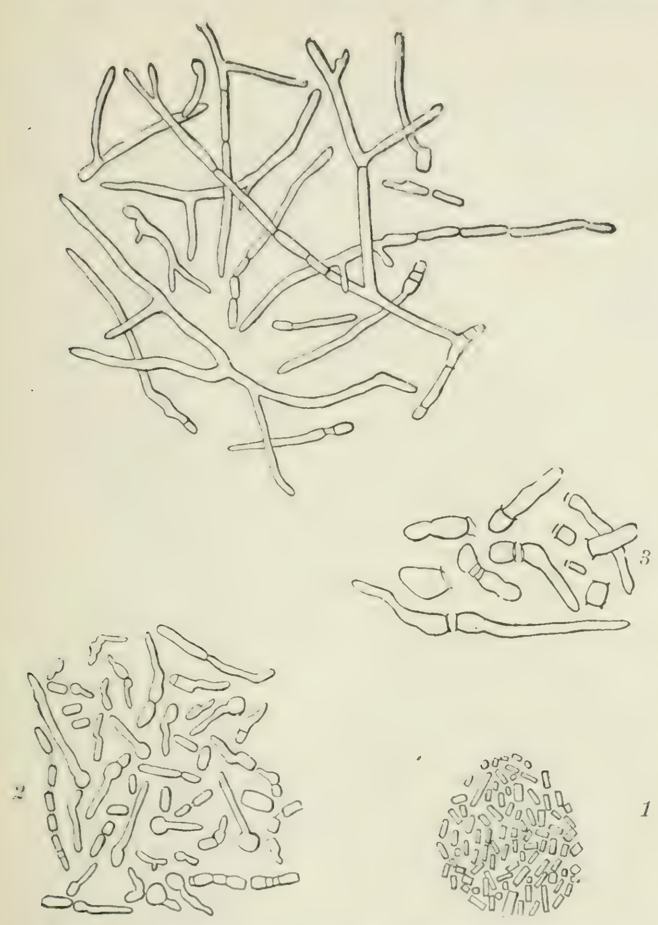


Fig. 62. Gemmenbildung des Hausschwammes. Die Mycelfäden septieren sich kurz. Sie schwellen in einzelnen Zellen etwas an, während andere entleert werden und daher collabieren. Die Membran der collabierten, entleerten Zellen zerreißt. Die Gemmen liegen isoliert in Haufen beisammen. *1* Gemmenhaufen in älterer Kultur. *2* Gemmenkeimung 2 Tage nach der Aussaat. *3* Gemmentrennung und Krümmung. *4* Gemmenkultur auf Nährgelatine.

Ihr Querschnitt (s. *Fig. 65*) zeigt nach Hartig drei verschiedene Organe, die auch im Längsschnitt deutlich zu unterscheiden sind. Es treten sehr weitlumige, plasmareiche Hyphen hervor, die an die Gefäße höherer Pflanzen erinnern und möglicherweise der Wasserleitung dienen, ferner kleine schnallenlose, sehr dickwandige und englumige Hyphen, welche an Sklerenchymfasern erinnern und als Festigungsorgane aufgefasst werden können, sowie drittens zarte Hyphen mit durchbrochenen Querwänden, welche ihnen Aehnlichkeit mit Siebröhren geben mögen. Auf jeden Fall dienen die Stränge zum Transport von Wasser und Nährstoffen. Am Mycel und an den Außenschichten der Rhizomorphen werden große Mengen oxalsauren Kalkes ausgeschieden.

Die **Form der Fruchtkörper,** welche vom Mycel gebildet werden, ist von der Art des Substrates abhängig (s. *Taf. VIII, Fig. 1* und *3*). Entstehen sie aus Mycelwatten, welche größere Holzflächen überziehen, so gibt es große ausgedehnte Fladen oder bei geringer Feuchtigkeit dünne hautförmige Fruchtkörper. Wachsen sie aus einem Loche im Brett oder der Mauer oder aus kurzen Spalten hervor, dann werden sie zu zentrifugal sich vergrößernden Tellerformen. Das weiße Mycel nimmt rötliche oder gelbliche bis bräunliche Färbung an, es beginnt Tränen auszuscheiden, wie das auch sonst am Mycel zu beobachten ist und dem echten Hausschwamme den Beinamen „*lacrymans*" eintrug. Das Mycelgeflecht wird dichter, und es beginnt das sich zum Fruchtkörper entwickelnde Polster vom Zentrum aus sich braun zu verfärben und faltige

Fig. 63. Jugendliches Mycel mit Schnallenbildungen. Nahe der Spitze entstehen Aussprossungen *a a*, die sofort halbkreisförmig nach rückwärts sich krümmen und mit der Hyphe unter Resorption der Wandung wieder verwachsen *b*, worauf eine Scheidewand in der Hyphe entsteht. Entweder sproßt die Schnalle nun sofort aus *d*, oder es bildet sich schon vor der Aussprossung eine Querwand an der Basis der Schnalle *c*. Die Schnallenaussprossung bildet sehr bald wieder eine Schnalle auf der Ober- oder Unterseite *e e*. Selten entstehen Seitenhyphen ohne vorherige Schnallenbildung *f*; häufiger dagegen einer Schnalle gegenüber (*g*), worauf dann alsbald die neue Hyphe zur Schnallenzellbildung schreitet (*h*). Oft entstehen zwei Schnallen einander gegenüber, von denen die eine geschlossen bleibt oder ebenfalls auskeimt (*k*). Es kommt auch der Fall vor, daß einer geschlossen bleibenden Schnalle gegenüber die Aussprossung erfolgt, die sofort eine Schnalle bildet (*i*). — Vergr. 420. Nach Hartig.

Rücken in feinem Netzwerke zu bilden, während der Rand noch wächst und aus weißen Mycelwatten besteht. Die Oberfläche des faltigen Netzwerkes wird zur Hymenialschichte, unter welcher das Mycel eine galler-



Fig. 64. Hyphenendigungen des Kolonierandes einer Agarkultur vom Hausschwamm. Die Figuren in der oberen Partie sind mit System 8 mm von Zeiß, die unteren mit System 4 mm und Okular 4 gezeichnet. Die Schnallenhyphen fusionieren nicht.

tige, wasserhelle Zone aus dicht verflochtenen Hyphen mit verquellenden Wänden bildet. In der Hymenialschichte stehen die Hyphenenden senkrecht von der Oberfläche ab, schwellen am Ende keulig an und wachsen zu meist vier sich zuspitzenden Sterigmen aus (s. *Fig. 66*). Die Sterigmen enden mit feinem Knöpfchen, auf dem die Spore aufsitzt, um mit ihm schließlich abgeworfen zu werden (vgl. *Fig. 56* u. *57* auf S. 307 u. 308). Die knopfförmigen Ansätze der Sporenmembran sah ich auch bei *Paxillus acheruntícus*, sie kommen wahrscheinlich häufiger vor und vermitteln vielleicht die Ablösung wie die Disjunktoren bei *Sclerotinia* oder die Zwischenzellen bei den Aecidien. Hartig sah in der Sporenmembran unter dem Knöpfchen eine porenartige helle Stelle, an welcher die Keimung erfolgen kann. Möller, der den Porus auch mit der besten Seibertschen Immersion nicht deutlich erkennen konnte, sah bei den beobachteten Keimungen in künstlichen Kulturen die Keimhyphe auch an anderer Stelle austreten, was ich bestätigen kann.

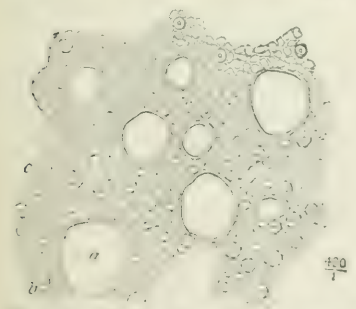


Fig. 65. Teil eines Myceelstranges im Querschnitte. Die größten Lumina gehören den Gefäßen (*a*), die engsten den dickwandigen Sklerenchymfasern (*b*) an. Beide Organe sind in zartwandige, dicht stehende Myceelfäden (*c*) eingebettet. — Vergr. 420. Nach Hartig.

In meinem lichtlosen Pilzkulturkeller bildeten sich keine Frucht-

körper. Dieselben entstanden aber von Mai bis September fortgesetzt, sobald das Mycel durch die Ritzen der Decke hervorwuchs. Die Fruchtkörper entstanden als horizontal ausgebreitete Fladen, die in vier Wochen die Größe von 30 cm Länge und 15 cm Breite erreicht hatten. Unter Fußböden und in sehr dunkeln Kellerräumen sah ich oftmals Fruchtkörper entstehen. Sie bilden sich horizontal auf der Oberseite wie auf der Unterseite von Brettern und Balken und auch vertikal an Wänden und Mauern. Eine Neigung der Erhabenheiten der Fruchtkörper gegen das Licht wurde nicht wahrgenommen. Abgestorbene Fruchtkörper verschimmeln alsbald.

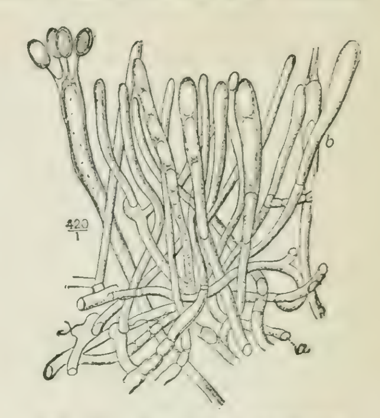


Fig. 66. Merulius lacrymans. Stück einer soeben sich bildenden Hymenialschicht aus der Oberfläche eines jungen Fruchtträgers. Die Hyphen *a*, aus welchen die Basidien *b* entspringen, sind noch nicht gallertartig gequollen und zeigen deutliche Schnallenzellen. — Vergr. 420. Nach Hartig.

Der Hausschwamm überwintert lebend an Holzstücken, welche dem Froste ausgesetzt sind, soferne dieselben feucht erhalten bleiben. Er erhielt sich an Holzstücken, welche ich etwa fußtief unter Moos und Torf aufbewahrt hatte. An der Oberfläche von Brückenhölzern entstandene Fruchtkörper gingen dagegen nach Möller beim ersten Froste zugrunde. Das Mycel soll nach Gotschlich (1) bei 30—35° C nicht mehr wachsen und bei 37° C schon nach 24 Stunden absterben. Nach Hartig geht es bei 40° C zugrunde. Nach Versuchen des Verfassers wächst es in feuchten Erdkästen mit Glasfenstern bei anhaltender Sommertemperatur, wobei das Maximum-Thermometer wiederholt sich auf 36° C hielt.

Die **Zersetzung des Holzes** durch *Merulius lacrymans* beginnt auf die Weise, daß die Keimhyphen des Hausschwammes sich gegen die Zellmembran des Holzes, auf dem die Sporen keimten, wenden und die Wandungen durchbohren. Die Mycelfäden entwickeln sich dann üppig im Innern der Tracheiden des Nadelholzes und benützen vielfach die zarten Häute der Hoftüpfel als Wege zu den Nachbarorganen, wie es auch Schimmelpilze, die nicht zu den Holzzersetzern gehören, tun können. Beim Durchbohren der dicken Zellwände werden die Hyphen innerhalb der Membran sehr dünn, um jenseits derselben wieder anzuschwellen. Sie hinterlassen daher nur feine Bohrlöcher in der Membran und scheinen auch beim Parenchym mit Vorliebe die Tüpfel als Durchbruchsorte aufzusuchen. Im Parenchym deckt das Mycel seinen Stickstoffbedarf durch Verbrauch des Zellplasmas. Die Markstrahlzellen sind daher bei Holz, welches vom Hausschwamm zerstört ist, ganz leer (s. *Fig. 67*). Stärke löste es bei Kulturen auf Kartoffeln nicht auf. In der Wandung der Holzzellen spaltet es, mittelst des von ihm ausgeschiedenen Enzymes Hadromase die ätherartige Hadromal-Cellulose-Verbindung, ohne jedoch das Hadromal zu verbrauchen. Dasselbe ist vielmehr aus ganz zersetztem Holze noch mit Alkohol auszuziehen und im Auszuge nachzuweisen. Auf die alten Holzreaktionen mit Phloroglucin und Salzsäure in der Kälte wie in der Wärme oder mit salzsaurem Anilin erhält man bei dem vom Hausschwamme ganz zersetzten

Holze deutliche rote resp. gelbe Färbung, nach CZAPEK's Annahme also ein Beweis für die Anwesenheit von Hadromal. Macht man die Permanganatreaktion nach MÄULE, so erhält man keine Färbung; doch ist das auch bei nicht zersetztem Nadelholz der Fall. SCHORSTEIN (1) konnte Holzgummi (ein Pentosan) mit der TOLLENS'schen Pentosanreaktion im Hausschwammholz nicht mehr finden. Es verhält sich demnach die Hausschwammzersetzung wesentlich anders wie viele andere Zersetzungen, bei denen die Hadromalreaktionen nicht mehr eintreten. Dennoch aber wird das Holz nicht zu Cellulose zersetzt, sondern bleibt von brauner Farbe, wird mürbe, zerreiblich und gibt keine Cellulosereaktion. Cellulose löst das Mycel mittelst eines anderen Enzymes, der Cytase oder Cellulase, und scheint sie als Nährstoff aufzunehmen, wenn dies auch bei Versuchen mit künstlichen Kulturen auf Watte noch nicht direkt nachweisbar war. Behandelt man aber vom Hausschwamm stark zersetztes Holz mit SCHULZE'schem Mazerationsgemisch, dann bleiben nur ganz dünnwandige, farblose Elemente zurück, die bei Behandlung mit Chlorzinkjod wie Cellulose reagieren und sich nach längerem Kochen ganz auflösen. Ferner wird der in den Membranen befindliche Kalk von den Hyphen aufgelöst. Die feinen Körnchen fehlen im Aschenskelett der Holzwände da, wo die Hyphen in engem Kontakt auf der Membran hinwuchsen (vgl. die *Fig. 48* auf S. 296).

Fig. 67. Radialschnitt durch Fichtenholz, vom Hausschwamm-Mycel durchwuchert; im unteren Teil ein Markstrahl, dessen Zellen getötetes Protoplasma *f* und eine Pilzhyphe zeigen. Im Innern der Holzzellen (Tracheiden) Mycelfäden, welche die Wandungen durchbohren *a*. Bohrlöcher ohne Pilz *b b* zeigen an, daß bereits früher Pilzhyphen tätig waren, die aber wieder verschwunden sind. Die dicken und dünnen Hyphen sind durch Schnallenzellen ausgezeichnet *c c*, welche teilweise zu neuen Seitenhyphen ausgewachsen sind *d d*. Zahlreiche Körnchen von oxalsaurem Kalk sind an einzelnen Hyphen ausgesondert *e e*. Angriffsstellen der Wandungen zeigen den Verlauf von Pilzhyphen, die bereits wieder aufgelöst sind. — Vergr. 420. Nach HARTIG.

Die physikalischen Veränderungen, welche das Holz durch die Zersetzung des Hausschwammes erleidet, zeigen sich zunächst in einer deutlichen Braunfärbung des vorher gelblichen Nadelholzes. Dieser Braunfärbung geht Verlust an Substanz des Holzes voraus: derselbe dauert an, solange die Hyphen noch ihre Existenzbedingungen im Holze

finden. Diese scheinen besonders von dem Stickstoffgehalt der Holzstücke abhängig zu sein. Hartig hat an künstlich infizierten Hölzern die von der Hausschwammzerstörung herrührenden Verluste an Volumen und Gewicht festgestellt. Er fand dabei, daß ein Holzstück innerhalb eines Jahres um 25 Proz. geschwunden war und 59 Proz. der Substanz verloren hatte. Ja, stärker zersetzte Stücke zeigten einen Substanzverlust von 68 Proz. Der Substanzverlust gibt sich in einem besonders nach Eintritt von Trockenheit sehr starkem Schwinden des zerstörten Holzes zu erkennen. Das zerstörte Holz schwindet nach allen Richtungen und bekommt dadurch Längs- und Querrisse, die es in tafel- oder würfelförmige Stücke (s. *Fig. 68*) zerreißen läßt (s. auch *Taf. VIII* und *IX*). Bleibt bei Fußbodenbrettern oder Verschalungen die trockene Außenseite intakt, während die Innenseite zerstört wird und schwindet, dann tritt eine Wölbung der Bretter ein, wobei oft die Nägel herausgezogen werden. Das zersetzte Holz nimmt sehr schnell und sehr viel Wasser auf, welches durch die zahlreichen Risse und Sprünge und die Bohrlöcher der Pilzfäden vordringen und die Luft aus solchen Oeffnungen austreiben kann. Dabei tritt ein bedeutendes Quellen der Membran ein. Die Tragkraft des Holzes und die sonstigen technischen Eigenschaften nehmen mit dem Grade der Zersetzung ständig ab und schließlich läßt sich zersetztes und trocken gewordenes Holz zwischen den Fingern zu einem feinen braunen Mehle zerreiben.

Fig. 68. Unterseite eines vom Hausschwamm zerstörten Fußbodenbrettes mit zahlreichen Schwindrissen und häutigem, grauem Mycele. Rechts sind einzelne abgelöste Mycelhautstücke abgebildet. — Auf ungefähr ein Siebentel verkleinert. Nach Hartig.

Als sogenannte **Hausschwammittel** kommt eine Reihe von Substanzen im Handel vor, mit denen das Holz imprägniert oder angestrichen werden soll, um es vor dem Befall des Hausschwammes zu sichern. Diese schwammsicheren Hölzer sollen sowohl da benützt werden, wo Schwammreparaturen stattfinden müssen, als auch in Neubauten, wo sich

eine gewisse Feuchtigkeit nicht vermeiden läßt. Als solche Mittel sind vor allem Kreosotöl, schweres Steinkohlenteeröl, Karburinol, Karbolineum erprobt; doch kommen noch viele andere Mittel mit mehr oder weniger gutem Erfolge zur Anwendung, so z. B. Antinonnin, Antipolypin, Antigermin, welche von Malenković (4) günstig beurteilt wurden. Sublimat kommt seiner Giftigkeit wegen bei Hausbauten als Hausschwammmittel nicht in Betracht. Kreosotöl ist wegen seiner Feuergefährlichkeit mit Vorsicht zu verwenden. Petroleum ist wegen des Geruches und seiner Flüchtigkeit weniger angewendet. Näheres über diese Bekämpfungsmittel ist bei Malenković (1 u. 4) zu finden. Für den Hochbau empfiehlt er vor allem die Phenole, die auch der wirksame Bestandteil im Antigermin, Antinonnin, im Steinkohlenteeröl und Kreosotöl sind, sowie gewisse Fluorverbindungen, so besonders Fluornatrium. Das Antipolypin besteht aus β-Naphtol, Natriumhydroxyd und Fluornatrium. Das Kieselfluoraluminium kommt im Handel in wässeriger Lösung unter dem Namen Montanin vor und hat sich gegen Hausschwamm gut bewährt. Dieses enthält (s. Malenković [4]) gegen 20 Proz. Kieselfluoraluminium und hat eine Dichte von 32° Baumé. Mycothanaton und Antimerulion bewährten sich nach den Versuchen Hartig's nicht. Mit Mikrosol, Afral Mycelicid hat Wesenberg (1) günstige Erfolge gegen Hausschwamm nicht er-

Fig. 69. Hausschwamm-Mycel auf Fußbodenbrettern. Die Ränder sind glatte Wülste (oben an den Brettern zu sehen). Auf dem Brett links sind stärkere „Stränge" entwickelt. — Auf ungefähr ein Zehntel verkleinert. Nach von Tubeuf.

zielt. Mit dem ersteren imprägnierte Brettchen wurden in meinem Versuchskeller im ersten Halbjahre noch nicht angegriffen. Manche der Mittel sind in ihrer Zusammensetzung unbekannt und fallen daher unter die Geheimmittel, deren gleichbleibende Komposition nicht kontrollierbar ist. Bei der Anwendbarkeit der Mittel kommt neben ihrer Giftigkeit für die Holzzersetzer noch ihr Preis, die Farbe, die Löslichkeit in Wasser, die Haltbarkeit und ihre Wirkung auf die Holzmembran in Betracht. Letztere ist bei freien Säuren, besonders z. B. der Schwefelsäure, eine sehr ungünstige, während nach Malenković die Flußsäure dem Holze nicht schaden soll und ihrer nur mäßigen Giftigkeit wegen verwendbar sei. Bei Hausschwamm-Reparaturen ist radikal vorzugehen und alles angegriffene Holzwerk zu entfernen und durch neues imprägniertes Holz oder besser durch Eisen, Beton, Asphalt, Gips usw. zu ersetzen. Es können aber z. B. Parkett und gute Bretter oder Lambristeile aus einem vom Hausschwamm zerstörten Hause nach gründlichem Dörren (etwa im Backofen), Kochen, Dämpfen, heißem Imprägnieren wieder Verwendung finden. Alles zerstörte und schon angegriffene Holzwerk ist am besten an Ort und Stelle zu verbrennen.

§ 85. Die Zerstörung des verarbeiteten Holzes durch Polyporus vaporarius. Andere Bauholzzersetzer. Trockenfäule und Rotstreifigkeit.

Polyporus vaporarius Fr., der Lohbeetlöcherschwamm, ruft nach Hartig (1 u. 2) ähnliche Holzzerstörungen in Gebäuden hervor wie *Merulius lacrymans* und kommt an manchen Orten auch fast ebenso häufig vor. Malenković fand ihn besonders oft in Weinkellern, Unterständen von Schießplätzen, dem in der Erde vergrabenen, die Telephonkabel umgebenden Holze usw. Nicht selten tritt er in Eiskellern während der eisfreien Monate auf und wird, im Gegensatze zu *Merulius lacrymans*, auch für tropische Gegenden angegeben. Er unterscheidet sich vom echten Hausschwamm ferner dadurch, daß er auch im Walde ein weitverbreiteter und häufiger Parasit der Nadelhölzer ist und oftmals mit feuchtem Holze aus dem Walde zur Säge und zum Zimmermannsplatz und schließlich in die menschlichen Wohnstätten hereingeschleppt wird. Dagegen ist seine Bekämpfung eine nicht so schwierige wie die des echten Hausschwammes, weil er nicht wie jener die Fähigkeit hat, mit besonders organisierten Rhizomorphensträngen das Wasser in trockene Räume mit zu transportieren und sich durch diese Fähigkeit von einem feuchten Ausgangspunkte auch in trockene Räume zu verbreiten. Sobald das Holz trocken wird, stirbt *Polyporus vaporarius* ab. Zweifellos ist dieser Pilz sehr oft nicht erkannt und für den echten Hausschwamm gehalten worden, da beide Pilze im Zustande frischen, sterilen Myceles immerhin gewisse Aehnlichkeit besitzen.

Es ist jedoch meist nicht schwer, die zwei Arten zu unterscheiden, besonders wenn sie Fruchtkörper bilden (s. *Taf. IX, Fig. 4* und 5). Diejenigen des *Polyporus vaporarius* sind rein weiß, nehmen aber je nach Substrat und Luftfeuchtigkeit recht verschiedene Gestalten an und werden in den mittleren, älteren Teilen gelblich. Sie bilden bald krustenartige Ueberzüge mit eckigen Poren der Hymenialschichte, bald kugelige Wucherungen mit Höhlungen, die entstehen, wenn an den an einer Decke wachsenden Fruchtkörpern sich fortgesetzt große Wassertropfen bilden, welche das

gleichmäßige Wachsen der Fruchtkörper hemmen. Die Sporen sind farblos, 5—6 μ lang und 3—3,5 μ breit. Sie haben einen eigentümlichen Geruch. In künstlicher Kultur erhält man wieder Fruchtkörper,



Fig. 70. Polyporus vaporarius.
Schneeweiße Mycelstränge in zierlicher Verzweigung auf einem Brette sich fächerförmig ausbreitend. — Verkleinert. Nach VON TUBEUF.

aber keine Konidienformen. Zwischen den Basidien der Fruchtkörper stehen auf der Hymenialfläche vereinzelte zugespitzte Cystiden. Die Hyphen tragen Schnallenzellen, welche aber geschlossen bleiben und nicht wie beim Hausschwamme aussprossen. Das Mycel ist auch in großen, das Holz überziehenden Häuten (s. *Fig. 70*) rein weiß (s. *Taf. IX. Fig. 6*), während das Mycel des Hausschwammes grau wird (*Taf. IX. Fig. 7*). Die Rhizomorphenstränge bleiben ebenfalls weiß, fühlen sich weich lederig an und haben nicht die differenzierte Struktur wie jene des Hausschwammes. Bei der Zerstörung des Holzes wird die Mittellamelle auf große Strecken aufgelöst, so daß das ursprüngliche Hyphenbohrloch von einer weiteren Grenzlinie umgeben erscheint. Die Schließ-

haut der Tüpfel fällt zum Teil heraus. Viele Tüpfel zeigen radiale Risse. Die Herbstholz-Tracheidenwände bekommen vielfach parallel übereinander liegende, kurze Spalten (s. *Fig. 71* u. *72*). *Polyporus vaporarius* entnimmt dem Holze fast die ganze Cellulose. Das zersetzte Holz wird

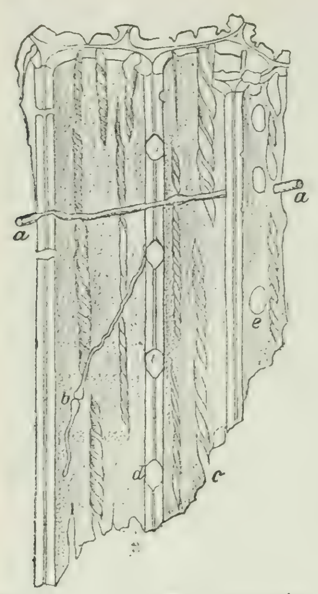


Fig. 71. Polyporus vaporarius. Zwei Tracheiden des Herbstholzes mit braunen Mycelfäden *a*, mit feinen, farblosen Hyphen *b* und mit zahlreichen komponierten, vertikal verlaufenden Rissen *c*. Die Tüpfel erscheinen sowohl im Querschnitt *d*, wie in der Aufsicht *e* als offene Löcher. — Vergr. ca. 360. Nach Hartig.

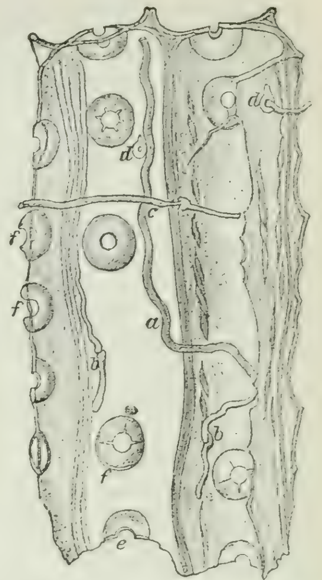


Fig. 72. Polyporus vaporarius. Zwei Tracheiden des Frühlingsholzes. Die teils braun gefärbten (*a*), teils farblosen und Schnallenzellen führenden (*b*) Hyphen durchbohren die Zellwandungen (*c*), wobei sie außerhalb der Wandung häufig anschwellen, innerhalb sehr dünn erscheinen. Die Mittellamelle der Wände löst sich auf weite Strecken auf, so daß in der Aufsicht (*dd*) das ursprüngliche Bohrloch von einer weiteren Grenzlinie umgeben ist. Die Schließhaut fällt zum Teil heraus (*e*). Viele Tüpfel zeigen radiale Risse (*f*). Die rechts liegende Tracheide zeigt in der Wandung zahlreiche übereinander stehende Spalten. — Vergr. 360. Nach Hartig.

rotbraun, beim Trocknen rissig und dem halb verkohlten Holze immer ähnlicher, bleibt aber braun. Schließlich ist es in der Hand zu Pulver zu zerreiben. Die Maßnahmen gegen diesen Pilz bestehen darin, daß man nur gesundes und gut ausgetrocknetes Holz zum Bauen verwendet, trocken baut und den Bau weiterhin überall, wo Holz verwendet wird, vor Feuchtigkeit schützt. Es ist ferner anzunehmen, daß die bei Schwammreparaturen in Verwendung kommenden Mittel zum Bestreichen und Imprägnieren der Bretter, sofern sie gegen den echten Hausschwamm nützen, auch gegen diesen Pilz nützlich sind. —

Einige **andere Bauholzzersetzer** sollen nun noch kurz angeführt werden. In Hausbauten treten an feuchtbleibenden Holzteilen, insbesondere in Kellern oder Parterrelokalen, manchmal verschiedene, mit dem Holze aus dem Walde in Mycel- oder Sporenform eingeschleppte

Pilze auf, und es vermögen einige derselben bei günstigen Vegetationsbedingungen auch größere Holzzerstörungen zu bewirken. Meist liegen dann größere Baufehler vor, wie die Verwendung von feuchtem Füllmaterial, nassem Holze und die Verhinderung baldigen Austrocknens durch zu frühes Legen von Parkett, Anstriche und Mauerverputz. SCHRÖTER (1) teilt mit, an Dachbalken besonders luftig gehaltener Baulichkeiten (Baracken, Ställe) den *Polyporus contiguus* gesehen zu haben, dann an Balken und Dielungen den *P. destructor* und *P. medulla panis*, unter den Dielungen *Lentinus suffrutescens* und *L. lepideus*, sowie zwischen den Dielungen hervorbrechend den *Coprinus domesticus*, ferner an Balken und Dielungen die *Coniophora cerebella* PERS. (= *Thelephora puteanea*). Er schreibt diesen gelegentlich vorkommenden Pilzen aber keine größere praktische Bedeutung in Häusern zu. Nach LUDWIG (1) soll auch *Polyporus Ptychogaster* LUDW. in Gebäuden in Gesellschaft mit dem Hausschwamme Zersetzungen hervorrufen. *Paxillus acheruntieus* HUMB. (syn.: *P. panuoides* FR.) kann nach des Verfassers Beobachtungen am Holze feuchter Keller eine starke Zerstörung verursachen und ist daher auch in Bergwerken nicht bedeutungslos. *Lenzites sepiaria* WULF und auch *Lenzites abietina* BULL. treten am häufigsten an Brückengeländern aus Nadelholz, den Balken und Brettern der Holzbrücken und den Zäunen auf. Sie vertragen offenbar zeitweiliges Austrocknen und wachsen in Regenzeiten wieder weiter. An Holzwerk von Gebäuden können sie bei genügender Feuchtigkeit wie alle Holzbewohner auch gedeihen, doch ist ihre Zerstörung eine langsame und hört mit dem Austrocknen auf. Eine Anzahl anderer Pilze hat HENNINGS (1) jüngst zusammengestellt, doch ist keiner derselben wissenschaftlich bearbeitet.

Die **Trockenfäule** wird erst mit zunehmender Austrocknung des Holzes bemerkbar, weil das vorher zerstörte Holz beim Austrocknen in hohem Grade schwindet. Hierdurch tritt Werfen und Senken vielfach ein. Der eigentliche Zersetzungsprozeß dauerte aber vorher nur, so lange das Holz noch Feuchtigkeit enthielt, und hört mit dem Austrocknen auf. Er führt in Neubauten nicht nur zum Verfaulen der Balken und besonders der Balkenköpfe (s. *Fig. 52* auf S. 303), sondern auch der Bretter von Fehlböden und Fußböden. So starke Zerstörungen entstehen besonders dann, wenn nicht nur das eingebaute Holz sondern auch das Füllmaterial noch feucht ist und das Austrocknen durch schnellen Bodenanstrich oder Parkettlegen verhindert wird. Wie auf S. 303 gezeigt worden ist, beginnt der Prozeß der Trockenfäule im Walde durch Einfliegen von Pilzsporen in Schwindrisse der entrindeten Hölzer und schreitet besonders schnell bei feuchtem Wetter oder nach dem Flößen und Triften des Holzes vor. Alle Maßnahmen, welche darauf hinstreben, das Holz möglichst bald nach der Fällung zum Zerschneiden auf die Säge zu bringen, also die Zeit des Lagerns im Walde und am Sägenplatz abzukürzen und das Holz nach der Fällung nicht mehr naß werden zu lassen, sei es durch Vermeiden nassen Transportes oder durch geschütztes und dabei doch luftiges Lagern, vermindern die Gefahr der Rotstreifigkeit und Trockenfäule. Schnelles Einbauen rotstreifiger Bretter und Balken mit erschwerter Austrocknungsmöglichkeit im Hause bewirken fortschreitende Zerstörung, bis Trockenheit des Materiales eintritt. Es kann außer Vorsorge für schnelles Trocknen auch ein Bestreichen der Balkenköpfe mit Kreosotöl, Karburinol, Karbolineum usw. empfohlen werden. Das zersetzte Holz nimmt eine rötliche Farbe an und wird so mürbe, daß es mit den Fingern zerrieben werden kann;

es treten aus den kranken Holzteilen aber keine makroskopisch sichtbaren Mycelmassen hervor, wie dies beim echten Hausschwamm, bei *Polyporus vaporarius*, bei *Coniophora puteanea* und bei vielen anderen Holzzerstörern der Fall ist. Mikroskopisch sind die Mycelien von Pilzen 5 nachweisbar. Der Schaden, welcher durch die Rotstreifigkeit den Sägemüllern und Holzhändlern entsteht, ist ein sehr beträchtlicher, da rotstreifige Bretter nur mehr als minderwertiges Material verwendbar sind. Bei Hausbauten ist bei Verwendung von rotstreifigen Balken und Brettern Vorsicht anzuraten, resp. davor zu warnen.

10 **§ 86. Die Zerstörung des im Freien verwendeten rohen oder bearbeiteten Holzes.**

Rohholz kommt vor allem bei Zäunen, Bohnenstangen, Hopfenstangen, Gartenhäuschen, kleineren Brücken usw. in noch berindetem Zustande zur Verwendung. Die Haltbarkeit dieses Holzes ist nur von sehr kurzer 15 Dauer, da das verwendete jugendliche Holzmaterial relativ reich an Stickstoff und Kohlenhydraten, unterstützt von dem Nährstoffgehalt der Rinde und mit dem nötigen Wasser durch Regen und Tau immer wieder versorgt, vielen Pilzen besonders zusagt. Der Wechsel an Trockenheit und Befeuchtung ermöglicht es allerdings nur solchen Pilzen hier zu 20 wachsen, welche das zeitweilige Austrocknen vertragen können. Dafür wird durch den steten Wechsel von Quellen und Schrumpfen der Membran und somit der ganzen Hölzer ein „Arbeiten" des Holzes bewirkt, welches zu Zerreißungen und sonstiger mechanischer Zerstörung führt und immer wieder neuen Pilzen Eingangspforten bietet. Die wich- 25 tigsten Zersetzer des Nadelholzes im Freien, wie der Brückengeländer, Zaunpfosten und Latten, Wegprügel usw., sind *Lenzites sepiaria* und auch *Lenzites abietina*, während die Eichenhölzer, welche zum Beispiel viel zu Holztreppen an Berghängen und auch zu Wildzäunen, Gartenhäuschen, Pfosten usw. Benutzung finden, besonders durch *Daedalea quercina* leiden. 30 Die beliebten Ziergeländer an Brücken, Wegen und Gartenhäuschen aus berindetem Birkenholz werden ebenso wie Eichenhölzer gerne von *Stereum hirsutum* befallen werden. Auch *Polyporus betulinus* lebt an solchen Birkenhölzern noch weiter und entwickelt an ihnen seine Fruchtkörper. Wird das Holz erst trocken und nicht frisch, wie man dies oft an den 35 sogar noch ausschlagenden Zierbrückengeländern und Zäunen sieht, verwendet, dann sind die ganz in der Luft befindlichen Teile relativ wenig der Zerstörung ausgesetzt. Diese ist bei Zäunen, Pfosten, Bohnen- und Hopfenstangen usw. vorwiegend in der Grenzregion zwischen Luft und Boden wirksam. Da es sich nur um geringwertiges Material handelt, 40 geschieht meist nichts zur Konservierung desselben, außer etwa das Ankohlen der in die Erde einzurammenden Pfähle. Die Entrindung des Holzes befördert die Austrocknung und wird bei allem wertvolleren Holze vorgenommen; so benutzt man entrindetes Holz vielfach schon bei den Zäunen und Pfosten, den Gartenhäusern, Weinbergpfählen, 45 Telegraphenstangen. Weiter findet man verarbeitetes Holz bei den Wänden und Dächern von Hütten (Heuhütten, Sennhütten, Holzhäusern, Blockhütten mit Rundstämmen oder bekanteten Stämmen und Brettern), Schindeln, größeren Brücken, Turngeräten, Masten usw. Unter den Zerstörungsarten dieser Hölzer sind einige von größerem Interesse und 50 daher im nachfolgenden speziell zu besprechen.

Als **Vergrauung** bezeichnete WIESNER (1) die bekannte Veränderung von im Freien befindlichen Hölzern, deren Oberfläche eine hellgraue, öfters mit Silber- oder Seidenglanz verbundene Farbe annimmt. Man beobachtet dieses Grauwerden besonders an Schindeln, Gartenzäunen, Plankenbrettern, Zaunbalken, Holzhütten usw. Die Vergrauung tritt an Laub- und Nadelholz auf und wurde schon von WIESNER an *Robinia Pseudacacia*, *Köhlreuteria paniculata*, *Acer*-Arten, *Salix*-Arten, *Fagus*, *Crataegus Oxyacantha*, *Pirus Malus*, *Tilia parvifolia*, *Betula*, *Alnus*, *Pinus silvestris* und *P. Laricio*, *Larix europaea*, *Picea excelsa* und *Abies pectinata* beobachtet, während Eichenholz z. B. nie vergraue. Das Vergrauen erfolgt dauernd nur an Holz, welches wechselnd feucht und trocken wird, wie vertikal stehende Zaunlatten oder schräg liegende Schindeln, also demnach an längsgeschnittenem und nicht horizontal liegendem, quergeschnittenem Holz, in dessen Inneres Wasser eindringt. Beim Vergrauen wird die Holzoberfläche haarig, faserig und wollig, da sich die Elementarorgane des Holzes voneinander trennen und abschilfern. Nach WIESNER ist die Trennung der Einzelzellen voneinander durch mechanische Einflüsse beim Wechsel von Feuchtigkeit und Temperatur veranlaßt, d. h. es tritt zuerst eine Zerstörung der Mittellamellen ein, im weiteren aber werden die Membranen so zersetzt (nach WIESNER durch die Atmosphärilien ausgelaugt), daß sie alsbald Cellulosereaktion geben. Die Zersetzung betrifft zuerst die Markstrahlzellen, welche sich loslösen und in den äußersten Holzschichten vollständig aus dem Gewebe herausfallen, während das Längsparenchym sich am längsten erhalten soll. Sehr häufig findet man in der vergrauenden Schicht ein dunkelgefärbtes Pilzmycel, dem wohl auch die häufig zu beobachtenden Durchlöcherungen der Membranen zuzuschreiben sind. Stärke aber löst es nicht.

Die **Bräunung** der Hölzer ist eine verwandte Erscheinung. HARTIG (5) wies zuletzt darauf hin, daß die Holzwände im Hochgebirge auf den Süd- und Westseiten eine rot- bis schwarzbraune Farbe infolge eines unter starker Insolation eintretenden Verkohlungsprozesses annehmen und daß dieselbe Erscheinung dort auch bei der Lärchenborke zu beobachten sei. Die widerstandsfähigeren Herbstholzplatten ragen an den braun verfärbten Balkenköpfen der Blockhütten weit über die Sommerholzringe hervor. Auf den Nord- und Ostseiten tritt an Stelle des Braunwerdens das Vergrauen des Holzes auf. Auch WIESNER (1) hatte die Bräunung der Hölzer schon beobachtet und auf den Einfluß von atmosphärischen Wässern und Gasen zurückgeführt. Seiner Beobachtung nach tritt sie in sehr luftfeuchten alpinen Lagen am Holz der verschiedenen Nadelbäume auf und ist eine Art Humifizierung. Wieweit bei solchen und ähnlichen Holzverfärbungen von den Pilzen ausgeschiedene Pigmente wirksam sind, bleibt im Einzelfalle zu untersuchen. Auffallend ist z. B. die dunkle Verfärbung des Eichenholzes, wenn es von *Fistulina hepatica* bewohnt ist. Von *Pyrenochaeta humicola* gibt VAN ITERSON (1) an, daß das Mycel ein dunkelschwarzes, gegen Säuren und Alkalien dauerhaftes Pigment ausscheidet, welches die Cellulosefasern schwarz färbt und ganz an die Humusfarbstoffe erinnert.

Als **staubige Verwesung** bezeichnet WIESNER (1) jene Zersetzung des Nadelholzes, bei welcher das Holz so verändert wird, daß man es mit den Fingern zu feinem Mehl oder Staub zerreiben kann. Pilzmycelien wachsen aus solchen Hölzern nicht in sichtbaren Mengen heraus. Die dickwandigen Sommerholzzellen zeigen sich hierbei widerstandsfähiger als die dünnwandigen Frühlingstracheiden. Eine Lösung

der Ligninsubstanzen und somit eine Verwandlung des Holzes in Cellulose findet nicht statt. Es scheint diese Zersetzung der sogen. Trockenfäule sehr ähnlich zu sein, und man darf wohl für beide Zersetzungsarten des Holzes mikroskopisch nachweisbare, aber nicht zu größeren Watten, Flocken, Strängen, Lappen sich verdichtende Pilzmycelien als Veranlasser annehmen. Es ist hier aber ein Feld zu weiterer chemischer und botanischer Forschung noch offen.

Wichtigere besondere Verwendungsarten des Holzes, bei welchen es ohne Schutz vor Feuchtigkeit bleibt, sind besonders jene zu Schwellen, Telegraphenstangen, Weinbergpfählen, Holzpflaster und Grubenhölzern, von welchen die drei letztgenannten in dem vorliegenden Paragraphen besprochen werden sollen. Die Zerstörung und die Konservierung der Eisenbahnschwellen und Telegraphenstangen hingegen werden dann im nächsten Paragraphen ihre Betrachtung finden.

Zu **Weinbergpfählen** wird besonders das Holz der Eiche, der zahmen Kastanie, der Kiefer, aber auch der Fichte verwendet. Die ganz in der Luft befindlichen Teile würden von ziemlich langer Dauer sein, die an der Grenze zwischen Luft und Boden befindlichen Teile sind aber der Zerstörung sehr stark ausgesetzt und zwar durch die Mycelien höherer Pilze. Es sind bei dieser Zerstörung des Holzes zweifellos verschiedene Arten von Pilzen beteiligt und zwar auch Arten, die nicht zu den typischen Holzbewohnern gehören, wohl aber — wie offenbar sehr viele höhere Pilze — die Fähigkeit haben, in den Holzkörper einzudringen und zu seiner Lockerung beizutragen. Es kommt aber auch vor, daß Pilze in dem Holze der Pfähle aus dem Walde schon in die Weinberge verschleppt werden, hier ihre Zerstörung des Pfahlholzes fortsetzen und sich mittelst Rhizomorphensträngen sogar von Pfahl zu Pfahl weiter verbreiten. Dies ist wenigstens von *Polyporus vaporarius* an Fichten- und Kiefernpfählen in Geisenheim beobachtet worden. Die Behandlung der Pfähle mit Kupfervitriol (Aufsaugen durch die frischen Pfähle) schützte nicht vor diesem Pilze, wohl aber waren kreosotierte oder in Teer gekochte Pfähle vor ihm geschützt. Nach Meissner nimmt aber der Wein und Most einen scharfen Geschmack nach Kreosot an, wenn die Pfähle kreosotiert waren. Gegen die Zersetzung des Holzes, sowohl der Kernhölzer von Eiche, Edelkastanie und Kiefer wie des Splintholzes von Fichte und Kiefer, wendet man Imprägnierungsmethoden an oder man vermindert den Gebrauch des Holzes, ersetzt die hölzernen Pfähle durch eiserne und verwendet Drähte. Ueber den Erfolg verschiedener Imprägnierungsmittel teilen die Geisenheimer Berichte mehrfach Erfahrungen mit. Es wurden besonders Ankohlen der Pfosten, Anstreichen mit Steinkohlenteer, Kochen mit Steinkohlenteer, Eintauchen in heißes Karbolineum, Einstellen frischer Stangen in Kupfervitriol, Burnettieren, Kyanisieren, das Hasselmann'sche Verfahren geprüft. Das Verfahren muß einfach, billig, für lange Zeit wirksam sein und darf eine Schädigung für die Weinreben nicht zur Folge haben. Langjährige Versuche in Geisenheim ergaben, daß es sich am meisten empfiehlt, die Pfähle grün in Kupfervitriollösung zu stellen, so daß die Pfähle die Lösung aufsaugen. Je frischer das Holz, desto leichter saugt es die Lösung auf; gerissene oder stammrunde Pfähle sind leichter als geschnittene zu imprägnieren, da diese nicht mehr so frisch sind. Diese Imprägnierung kann überall leicht von den Winzern durchgeführt werden. Bei künftigen, vergleichenden Versuchen wäre auf die Gleichartigkeit der benutzten Pfähle zu sehen, und die

Versuche müßten auf demselben Landstück gleichzeitig beginnen, abschließen und die Kostenberechnung enthalten.

Baumpfähle und **Hopfenstangen** werden vielfach nur angekohlt, wobei der sich bildende Teer wirksam wird; eine volle Imprägnierung mit Teeröl, welches allmählich in den Boden sickert, und eine Imprägnierung mit Sublimat wird hier meist ebenso wie bei Gewächshäusern vermieden wegen der schädlichen Wirkung auf die Kulturpflanzen, weil es leicht auslaugt und zu giftig ist. Eine Imprägnierung mit Kupfervitriol und wohl auch mit Zinkchlorid erscheint unschädlich. Im allgemeinen aber ist eine Imprägnierung der Hopfenstangen nicht üblich, wenn auch ein Imprägnieren mit Karbolineum ohne Schaden für die Pflanzen schon angewendet wurde. Dagegen werden die Gerüstsäulen der Hopfengärten, Spreizen, Ueberlegstangen erfolgreich kyanisiert.

Das **Holzpflaster** wird vor allem mechanisch in Anspruch genommen; es unterliegt aber auch der Zersetzung durch Pilze und wird aus diesem Grunde imprägniert. Man verwendet von den einheimischen Hölzern besonders mit Zinkchlorid oder Kreosotöl imprägniertes Fichten- und Kiefernholz (letzteres aus Deutschland und Schweden). In Paris, wo das Holzpflaster am meisten und erfolgreichsten Verwendung findet, gebraucht man vor allem harzreiches, mit Kreosotöl (ohne Teerzusatz) imprägniertes Kiefernholz. Versuchsweise wurde auch schon imprägniertes Buchenholzpflaster gelegt (s. Freese [1]). Von fremden Hölzern hat man *Pinus australis*, *Tectonia grandis* und mehrere australische *Eucalyptus*-Arten versuchsweise mit und ohne Imprägnierung verwendet. Die das Holzpflaster zerstörenden Pilze sind nicht näher bekannt.

Die Zerstörung der **Bergwerkshölzer** bedarf einer eingehenderen Betrachtung. In den Bergwerken wird eine ungeheure Holzmasse verbraucht, und zwar kommen neben Langholz auch kurze Stücke von schwächeren Dimensionen, ein sehr erwünschter Absatz für die Forstwirtschaft, zur Verwendung. An Holzarten kommen zu den Grubenhölzern in Betracht das kostbare und sehr dauerhafte Eichenkernholz, das Holz der Buche und vor allem das Holz der Fichte und Kiefer; in geringem Maße werden aber noch verschiedene andere Holzarten gebraucht, wie Lärche, Robinie usw. Die Hölzer kommen zum Teil direkt zur Verwendung und unterliegen dann entsprechend der ihnen eigentümlichen Dauer in verschieden kurzer Zeit der Zerstörung. Hierbei hält Lärche und Eiche natürlich länger wie Fichte oder Buche. Die Dauer der Grubenhölzer ist eine besonders kurze, da in den Gruben ständig eine gleichmäßig hohe Feuchtigkeit und eine der Pilzvegetation günstige Temperatur während des ganzen Jahres herrscht. Diese Verhältnisse begünstigen ungemein das vegetative Gedeihen der holzzersetzenden Pilze. Dagegen sind viele von ihnen durch den Lichtmangel an der Entwicklung normaler Fruchtkörper gehindert und bilden teils gar keine oder solche von abnormen Gestalten, die früher besonderen neuen Arten oder Varietäten zugerechnet wurden (s. Elfving [1]). Besonders auffallende, oft geweih- oder korallenähnliche Formen nehmen bei Lichtmangel gerade die an feuchtlagernden Balken und Dielungen vorkommenden *Lentinus*-Arten und eine Anzahl anderer Pilze an, so *Lentinus lepideus* (Schaeff.), *L. suffrutescens* (Brot.), *L. tigrinus* (Bull.), aber auch *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) und andere. Solche Formen wurden von Scopoli, Humboldt, Hoffmann beschrieben, während schon Fries die formverändernde Wirkung des Lichtmangels erkannte; so identifiziert

er: *Ceratophora friburgensis* mit *Polyporus odoratus* WULF und *Ramaria ceratoides* mit *Lentinus lepideus Fr.* In der Hoym-Grube bei Czernitz fand SCHRÖTER (2) eine Anzahl von höheren Pilzen, so *Merulius tremellosus* und Mycel von *Merulius lacrymans* (?), *Agaricus melleus* mit Rhizomorphen und andere Rhizomorpha-Formen, z. B. *Mycena*-Arten, *Stereum sanguinolentum* (ALB. et SCHW.) in korallenartigen Monstrositäten, *Coniophora puteanea* (SCHUM.) mit hausschwammähnlichen Fruchtkörpern, *Lenzites sepiaria* (WULFF) mit verbildeten Fruchtkörpern, *Polyporus vaporarius* (?), *P. pinicola* FR., *P. Medulla panis* (PERS.), *P. caesius* (SCHRAD.), *P. albidus*, *Agaricus trichopus Scop.* (?) oder *Omphalia stellata* FR. (?), *Ceriomyces trabeus* SCHRÖT. und *Paxillus acheruntiucs* (HUMBOLDT) SCHRÖT., von dem SCHRÖTER sagt, daß er sich in ähnlicher Weise wie *Merulius lacrymans* an das Leben in Kulturstätten gewöhnt habe, im Walde nur selten vorkomme und in den Grubenbauten mit ihrer gleichmäßigen Wärme und Feuchtigkeit die besten Bedingungen für seine Existenz finde und sich durch Sporen fortpflanze. Er sei als ein ganz spezifischer Grubenpilz zu bezeichnen. Es besteht demnach eine umfangreiche Literatur über die Bergwerkspilze. Diese Arbeiten beschäftigen sich aber mehr mit der Beschreibung der Formen und der Aufzählung der Arten als mit der Berücksichtigung ihrer holzzerstörenden Wirkungen. HARZ (1) fand in oberbayrischen Bergwerken *Stereum sanguinolentum* FR., *Corticium ferrugineum* FR., *Radulum subterraneum* HARZ, *Merulius papyraceus* FR., *Trametes odorata* FR., *T. Pini* FR., *T. scutata* HARZ = *Polyporus annosus* FR., *Polyporus vaporarius*, *P. Engelii* HARZ, *P. albidus* SCHAEFF., *P. caesius* FR. Diese Pilze traten ausschließlich an Fichtenholz auf. Ferner fand HARZ (1) an Holzteilen in den Bergwerken: *Corticium incarnatum* FR., *Grandinia crustosa* FR., *Hydnum farinaceum* PERS., *H. coralloides* SCOP., *H. coralloides var. subterranea* HRZ., *Merulius lacrymans* FR., *Polyporus vitreus* FR., *P. callosus* FR., *P. mucidus* FR., *P. Radula* FR., *P. versicolor* FR. *var. alcicornis* HARZ, *P. mollis* FR., *Schizophyllum alneum* H. und *var. multilobata* HRZ., *Sch. alneum var. subterranea* HRZ., *Lentinus hygrophanus* HRZ., *Paxillus acheruntiucs* HRZ., *Coprinus caducus* HRZ., *C. trincorum* FR., *Agaricus fascicularis* HUDS. WETTSTEIN (1) fand an den Holzverkleidungen der Stollen und Schächte in einem Bleibergwerk bei Deutsch-Feistritz eine größere Anzahl von Pilzen, so *Clavaria crispula* FRIES., *Solenia candida* HOFFM., *Merulius cartilaginosus* WETTST., *Polyporus obliquus* PERS., *P. lucens* WETTST., *P. silaceus* WETTST., *P. caesius* SCHRAD., *Agaricus (Collybia) disciformis* WETTST., *A. (Mycena) tenerrimus* BERK., *A. (Crepidotus) Styriacus* WETTST., *Panus tenuis* WETTST., *Rosellinia aquila* FR., *Helotium lenticulare* BULL., ferner einige Schleimpilze und *Fungi imperfecti.*

Da bei der Auswahl des Grubenholzes vielfach nicht sehr ängstlich verfahren wird, dürften die Pilze mit schon erkrankten Holzstücken eingebracht werden. Oftmals mag allerdings auch die Infektion erst durch eingebrachte Sporen erfolgen. Bei der Vollimprägnierung von Grubenhölzern wird meist wegen der Feuergefahr von Teerölen Abstand genommen. Es kommt wohl am ersten Zinkchlorid in Betracht, doch wird auch schon nach dem RÜPING'schen Verfahren imprägniert. Ein neuerer Imprägnierapparat ist der von KRUSKOPF in Dortmund und zwar erfolgt die Imprägnierung mit „Crusco-phenol“. Nach vergleichenden Imprägnierungsversuchen der Grubenhölzer in der staatlichen Steinkohlengrube Altenburg bei Saarbrücken bewährte sich am besten

Karbolineum, während Steinkohlenteer nur die Außenschichten des Holzes vor Zerstörung schützte.

§ 87. Die Konservierung des Holzes, insbesondere die Imprägnierung der Schwellen und Telegraphenstangen.

Bleibt das Holz im Innern der Bäume vor eindringenden Insekten und Pilzen geschützt, so kann es hier eine, man möchte sagen, unbeschränkte Dauer behalten, und zwar sowohl die toten Organe wie die lebenden, Splintholz wie Kernholz. Werden doch viele Bäume hunderte von Jahren alt, ohne daß ihr ältestes Holz die geringste Veränderung erfahren hätte. Auch unter Wasser hat das Holz eine außerordentliche Dauer, wie die Hölzer am Grunde von Seen, Flußläufen und in Mooren beweisen. Aber auch das trockene Holz, wie es im Innern alter Bauten steckt, hat eine ungeheure Dauer.

Nur unter dem Einflusse von Pilzen (und Tieren) geht das Holz schnell zugrunde, also überall da, wo diese Organismen ihre Lebensbedingungen finden. Letztere sind vor allem gegeben, sobald das Holz sich an der Luft befindet und feucht ist. Daraus ergibt sich, daß am meisten gefährdet sind: Eisenbahnschwellen, Bergwerkshölzer, die zum Teil in der Erde, zum Teil in der Luft befindlichen Hölzer in der Grenzzone zwischen Luft und Erde (so die Telegraphenstangen, Hopfenstangen, Weinbergpfähle, Bohnenstangen, Zaunpfosten, das Holz der auf die Erde gestellten Gewächshäuser, Schuppen, Scheunen und Häuser). Hieraus ist zu folgern, bei welcher Verwendung das Holz am meisten des Schutzes gegen die zerstörenden Pilze bedarf, und daß Feuchtigkeit den gefährlichsten Zustand des Holzes schafft. Die Schutzmaßregeln zur Erhaltung der Holzdauer bestehen daher entweder in der Herstellung und Erhaltung ständiger Trockenheit, wie es bei allem unter Dach gebrachten Holz der Fall ist und wie es auch für das zwar im Freien befindliche, aber dem Luftzuge völlig ausgesetzte Holz bis zu gewissem Grade zutrifft, oder in dem Abschlusse der Luft, wie es bei Bauten unter Wasser (Pfahlrost) vorkommt. Wo aber das Holz infolge seiner Verwendungsart feucht werden muß, wie dies z. B. bei den Eisenbahnschwellen der Fall ist, da sucht man den Pilzen durch Anstrich oder Imprägnierung der Hölzer mit antiseptisch wirkenden Mitteln auf andere Art die Lebensbedingungen zu verderben. In den gefährdetsten Fällen endlich wird der Holzbau durch Stein und seine Surrogate, wie Beton oder Eisen ersetzt.

Die größte Bedeutung hat die Imprägnierung bei den Eisenbahnschwellen erlangt und werden noch fortwährend besonders in Europa und Amerika Versuche mit verschiedenen Imprägnierungsmethoden und -Mitteln gemacht. An dieselben wird als Anforderung gestellt: 1.) daß die Imprägnierung die technischen Eigenschaften des Holzes nicht ungünstig beeinflußt, 2.) daß sie die Zeit der Dauer des Holzes wesentlich erhöht, 3.) daß sie möglichst einfach, ohne Gefahr für die Gesundheit der Arbeiter und billig sei. Bei dem letzteren Punkte sind sowohl das Anlagekapital wie die Betriebskosten zu berücksichtigen. Bei Punkt 2 ist es notwendig, daß das Imprägnierungsmittel nicht nur die Pilzentwicklung an sich hindert, sondern daß es dies möglichst lange tut, d. h. aus dem Holze nicht ausgelaugt wird.

Im großen werden zur Imprägnierung der Schwellen besonders das

schwere Teeröl, Zinkchlorid, Kupfervitriol und Quecksilberchlorid benützt. Die drei letzten haben bei gewisser Konzentration giftige Eigenschaften für Pilze, das erste hindert außerdem noch das Eindringen von Wasser. An Giftigkeit steht Quecksilberchlorid an erster, Kupfervitriol an zweiter und Zinkchlorid an dritter Stelle. Der im Steinkohlenteer wirksame Bestandteil ist das Kresol (wovon er wenigstens 12 Proz. enthalten muß und etwas Karbolsäure). Ueber die Zusammensetzung und Eigenschaften des zur Schwellenimprägnierung in Verwendung kommenden Steinkohlenteeröles bestehen bei den deutschen und österreichischen Bahnverwaltungen bestimmte Vorschriften (s. SCHWACKHÖFER [1]).

Zur Imprägnierung kommt besonders das Holz der Eiche, Buche, Kiefer (und Lärche), Fichte (und Tanne). Als Imprägnierungsmethoden werden nach STRASBURGER (1) angewendet das Verfahren durch Imbibition, durch Ascension, durch Filtration und durch Injektion.

PAULET (1) und DRUDE (1) sind der Ansicht, daß die Konservierungsflüssigkeiten die Eiweißstoffe des Zellkerns und Plasmas nicht lösen, sondern mit ihnen entweder unlösliche Verbindungen eingehen, wie die Metallsalze, oder sie doch durchtränken, wie Kreosotöl, Terpentin usw., und als Antiseptika auf beide Art für Pilze ungenießbar machen. Die Holzmembran wird ebenfalls durchtränkt und auch von dem Zellumen aus noch inkrustiert, so daß sie in diesem Zustand auch antiseptisch wirkt und den Pilzen nicht zur Nahrung dienen kann. Es wurden bei verschiedenen Imprägnierungsverfahren auch die im Holz befindlichen löslichen Nährstoffe ausgetrieben oder durch Hitze chemisch verändert. Ein bloßes Auslaugen des Holzes in Wasser (Floßholz), wie es zu diesem Zwecke auch besonders angewendet wurde, kann den Zweck, die Zellinhaltsstoffe zu entfernen, nicht erreichen. Zu bedenken ist auch noch, daß viele holzzersetzende Pilze deshalb mit wenig Stickstoff auskommen können, weil ihr Plasmainhalt mit dem Weiterwachsen der Hyphen mitgenommen und nicht in den absterbenden Myceltäden zurückgelassen wird. Ueber die Geschichte der Imprägnierung gibt am erschöpfendsten RITTMAYER (1) Auskunft. Die gebräuchlichsten Verfahren hat kürzlich SCHWACKHÖFER (1) zusammengestellt. Die Beziehungen der Holzanatomie zum Imprägnierungsvorgang stellte STRASBURGER (1) fest. Neue Methoden beschreibt ANONYMUS (1). Die ersten vergleichenden Versuche über die Wirkung verschiedener Verfahren stammen von G. L. HARTIG. Im folgenden seien nun die wichtigsten Imprägnierungsmittel und -Methoden zur Darstellung gebracht.

Die Imprägnierung mit **Quecksilberchlorid** wird als **Kyanisierung** bezeichnet, da sie von KYAN im Jahre 1832 zuerst eingeführt wurde. Das Verfahren erfordert nur das Einlegen von fertigen lufttrockenen Schwellen in die in dichten Holzbottichen befindliche ca. 0,8-proz. Quecksilberchloridlösung auf 8—14 Tage und öfteres Untertauchen. STRASBURGER (1) bezeichnet diese Art der Imprägnierung, wobei sich das Holz mit der Imprägnierflüssigkeit vollsaugt, als Imbibitions-Verfahren. Vor dem Verlegen der Schwellen müssen sie einige Monate abtrocknen, wobei das Quecksilberchlorid noch etwas tiefer eindringt, doch kann ein vollständiges Durchdringen nicht erreicht werden. Das Verfahren ist sehr einfach und unabhängig von maschinellen Einrichtungen und daher billig. Das Imprägniermittel dagegen ist teuer und für Menschen innerlich sehr giftig. Gegen Pilze ist es aber auch ungemein giftig

und daher als Konservierungsmittel in geringster Menge sehr wirksam. Vom Wasser wird es allmählich ausgelaugt. Man imprägniert noch in mehreren deutschen Staaten nach diesem Verfahren Schwellen und Telegraphenstangen.

Mit **Kupfervitriol** imprägniert man gerne *frische*, berindete und beastete Stangen, welche die Lösung *selbst aufsaugen*; so besonders auch gerissene Weinbergspfähle. Das Verfahren führte Boucherie im Jahre 1840 ein. Strasburger (1) bezeichnet diese Art der Imprägnierung als Imprägnierung durch *Ascension*. Die Imprägnierflüssigkeit folgt den Wasserleitungsbahnen im Holze und verbreitet sich erst von diesen aus seitlich, sie steigt also bei Nadelhölzern besonders in den weiten Früh- und Folgetracheiden, während die dicken Wände der Spättracheiden mehr Kupfersalz speichern. Harz zieht das Kupfersalz besonders an. Der Inhalt des lebenden Holzlängsparenchyms und der Markstrahlen wird von dem Kupfersalz fixiert, gehärtet und entsprechend konserviert. Bei den Splinthölzern steigt die Lösung vornehmlich in den äußersten Jahrringen, doch wird von hier aus allmählich der ganze Splint durchtränkt, dagegen bleibt Kernholz völlig frei. Am leichtesten steigt die Lösung in Stämmen mit *belaubten* Aesten. Ist der Stamm entastet, so steigt sie leichter auf, wenn die Rinde entfernt ist; es kann der Stamm dann auch bereits bekantet sein. Mehr Erfolg bietet sofortige Imprägnierung bei der Fällung nach nassem Wetter und am frühen Morgen und bei glatten, frischen Schnittflächen. Außerdem wird Kupfervitriol in ausgedehntem Maße zur Imprägnierung von Telegraphenstangen besonders in Deutschland benutzt. Bei dieser Imprägnierung bedient man sich des von Boucherie im Jahre 1841 eingeführten Verfahrens der *Einpressung durch hydrostatischen Druck*. Eine 1-proz. Kupfervitriollösung wird aus einem ca. 10 m hoch stehenden Reservoire herab auf die mit einer Verschlußkappe versehene Hirnscheibe eines *frisch gefällten*, völlig berindeten Stammstückes geleitet und dringt mit ca. 1 at Druck ein. Die Zellmembranen und Zellinhaltsreste saugen sich mit Kupfervitriol an und behalten einen Teil zurück. Strasburger (1) bezeichnet dieses Einpressen der Imprägnierungsflüssigkeit unter hydrostatischem Drucke als die Imprägnierung unter Vermittlung von *Filtration*. Die Lösung folgt wie bei dem selbständigen Aufsaugen frischer Hölzer den Wasserleitungsbahnen und filtriert durch die Schließhäute der Tüpfel, getrieben von dem gegebenen Druck. Von den Wasserleitungsbahnen verbreitet sich die Lösung dann in die Umgebung durch *Imbibition*. Kupfervitriollösung filtriert in gleicher Zeit auch in gleicher Menge wie Zinkchloridlösung. Die Lösung dringt bei diesem Druckverfahren in alle nicht verschlossenen Wasserbahnen (auch z. B. in die Herbstholztracheiden und filtriert unter Druck leichter in deren Umgebung), so daß alles Splintholz gründlich imprägniert wird, während das Kernholz (auch der rote Kern der Buche) davon frei bleibt. Die Einpressung der Lösung hat am unteren Stammende zu erfolgen. Für diese Imprägnierung sind die Splinthölzer und die Kernhölzer (Kiefer) vor Eintritt der Kernbildung am meisten geeignet. Das Verfahren wird am besten in der Zeit der Vegetationsruhe, jedoch nur bei frostfreiem Wetter ausgeführt. Es ist, da jeder Stamm frisch und berindet sein und beidendig frische Schnittflächen haben soll und einzeln imprägniert wird, etwas umständlich und der Kupfervitriol teuer. Es wird daher hauptsächlich nur bei Telegraphenstangen, die ja aus Rundstücken bestehen und nachträgliche Bearbeitung nicht erfordern,

angewendet. Eisenteile in so imprägniertem und feuchtem Holze werden vom Kupfervitriol angegriffen, da sich Eisenvitriol bildet unter Freiwerden von Kupfer.

Die Imprägnierung des **toten** Holzes (besonders der Schwellen) mit **Zinkchlorid, Zinkchlorid mit karbolsäurehaltigem Teeröl** oder mit **karbolsäurehaltigem Teeröl allein** in Kesseln unter Druck und nach vorheriger Evakuierung der Luft bezeichnet Strasburger als Imprägnierung durch Injektion. Auch bei diesem Verfahren folgt die Imprägnierungsflüssigkeit den Wasserleitungsbahnen, von denen aus die Imprägnierung durch Infiltration und Imbibition erfolgt. Das Holz muß trocken sein, damit die Luft völlig ausgesaugt werden kann, worauf die Imprägniermasse eingepreßt wird. Der Kern kann auch bei diesem Verfahren nur sehr wenig und unvollkommen imprägniert werden. Der Kern sollte daher bei Schwellen stets von imprägniertem Splinte der Länge nach ganz umgeben sein. Auf den Schnittflächen kann man durch Bestreichen usw. noch nachhelfen. Vielfach imprägnierte man mit Zinkchlorid und Teeröl so, daß das frische oder trockene Holz zunächst durch Wasserdampf unter Druck „gedämpft" wurde. Nach Ablassen des Dampfes folgte eine Verdünnung der Luft im Kessel und dieser Evakuierung erst das Einlassen der Imprägnierungsflüssigkeit, welche nun unter Druck in das Holz gepreßt wurde. Das Dämpfen sollte ein Reinigen des Holzes, so daß es leichter zu imprägnieren wäre, und ein Töten von Mikroorganismen im Holze bewirken. Letzteres ist bei diesem Verfahren nicht notwendig. Die Imprägnierung wird aber durch vorhergehendes Dämpfen erschwert, weil die Luft nur aus ganz trockenem Holze leicht auszupumpen ist, und die Imprägnierungsflüssigkeit wird unnötig verdünnt; s. Strasburger (1) und Drude (1).

Das **Zinkchlorid** kann auch wie Kupfervitriol in frische, berindete Stämme im Walde eingepumpt werden, und zwar wird hier das Verfahren Pfister angewendet, welches nicht mit hydrostatischem Druck, sondern mit einer Druckpumpe arbeitet. Die Schwellenimprägnierung erfolgt aber allgemein in Kesseln unter pneumatischem Druck. In gleicher Weise wird auch das Teeröl imprägniert. Das Verfahren, welches von Bréant und Payen stammt und vielfache Verbesserungen, besonders durch Burnett, Bethell und Blythe erfahren hat, besteht im wesentlichen darin, daß die Schwellen oder sonstiges schon zugerichtetes Holz in einem Kessel erst evakuiert und dann unter 7.5 at Druck mit Zinkchloridlösung imprägniert wird. Diese Imprägnierung ist sehr billig und daher bei Schwellen vielfach verwendet, wenn auch das Zinkchlorid sehr leicht vom Wasser ausgewaschen wird und Eisenteile stark angreift. Um die Auslaugung zu hindern, hat man eine Teerimprägnierung mit diesem Verfahren so verbunden, daß eine Mischung von Zinkchlorid und Teeröl gleichzeitig oder eine Teerölimprägnierung nachfolgend angewendet wird.

Bei der **Imprägnierung mit Teeröl** werden die zubereiteten Schwellen oder sonstigen Hölzer bei 100° C getrocknet, dann noch warm im Kessel evakuiert und dann mit vorgewärmtem Teeröl bei 10 at Druck imprägniert. Auf diese Weise werden auch Telegraphenstangen imprägniert. Die Dauer des Holzes wird durch die Teerimprägnierung am meisten verlängert, da das Teeröl sowohl die holzzersetzenden Pilze wie auch Insekten (z. B. die Annobien) abhält, von Wasser nicht ausgelaugt wird und Eisenteile nicht angreift. Ungünstig erscheinen die hohen Kosten des Verfahrens, die Erhöhung des Gewichtes, das Ausschwitzen des

Teers und das wenig angenehme Hantieren mit demselben. Offenbar nur der Kosten wegen wird diese Imprägnierung nicht allgemein bei Schwellen angewendet. Was die verschiedenen Holzarten anbelangt, so läßt sich Buchenholz vollkommen imprägnieren (sofern nicht ein roter Kern mit Gummiverstopfungen der Gefäße vorhanden ist; dieser wird dann nicht-imprägniert). Buchen- und Eichenholz wird nach Strasburger durch Teerölimprägnierung hart und zähe, während Kiefernholz hart und spröde wird, so daß leicht radiale Spaltungen und Trennen der Jahrringschichten vorkommen. Kernholz wird nicht imprägniert und soll daher bei Schwellen aus Kernhölzern im Innern der Schwelle liegen. Das durch DRP Nr. 138933 von 1903 geschützte Rüping'sche Verfahren stellt gegenüber den bisherigen Teerimprägnierungsmethoden einen Fortschritt vor. Bei diesen letzteren blieben die Zellumina mit ziemlich viel Teer gefüllt, so daß bei Erwärmung des Holzes (z. B. der Telegraphenstangen) wieder Teer aus den kleinen Holzrissen hervorquoll. Es erforderte außerdem einen großen Teerverbrauch. Bei dem Rüpingschen Verfahren nun wird das lufttrockene Holz $^1/_2$—1 Stunde einem Luftdruck von ca. 5 at ausgesetzt, so daß die Zellräume mit komprimierter Luft gefüllt sind. In den so unter Druck stehenden Imprägnierkessel wird mit ca. $5^1/_4$ at warme Imprägnierflüssigkeit gepreßt und dabei aus dem Imprägnierkessel durch ein Ventil nur so viel Luft entlassen, daß ein Druck von ca. 5 at erhalten bleibt. Bei einem dann gegebenen Ueberdruck von ca. 15 at wird das Holz imprägniert. Es wird angegeben, daß in den einzelnen Tracheiden eine Luftblase unter Druck erhalten bleibe und bei Aufhebung des Druckes den in den Tracheidenluminis überschüssigen Teer aus den Holzstücken austreibe, so daß nur die Wände imprägniert blieben und eine große Teerersparnis eintrete. Es würde auch späterhin das bei der gewöhnlichen Teerimprägnierung oft lästige Teerausschwitzen vermieden. Das Verfahren wird in erster Linie für Schwellen, Telegraphenstangen, Grubenhölzer, Brücken und im Wasser bleibendes Holz, sowie bei Holzgebäuden empfohlen. Die so imprägnierten Hölzer können noch poliert und gestrichen werden. Es erlaubt auch aufeinander folgende Imprägnierung mit verschiedenen Mitteln, z. B. mit Metallsalz- und Seifenlösung, wobei sich unlösliche Metallseifen bilden.

Teeröl-Emulsionen (sowohl durch Einrühren von Teeröl in eine wässerige Harzseifenlösung wie das Einrühren von Teeröl in Harzöl, das mit konzentrierter Schwefelsäure behandelt wurde, wonach das so erhaltene Produkt mit Wasser emulgierbar wird) finden keine Anwendung mehr, weil nur die Membranen mit Wasser gesättigt und die Teerbestandteile schon in den äußeren Schichten zurückgehalten werden.

Von neueren Verfahren wäre zunächst noch das Hasselmann'sche zu nennen. Dasselbe erfordert zwei aufeinander folgende Imprägnierungen und zwar zuerst mit schwefelsaurer Tonerde und kupferhaltigem Eisenvitriol bei hoher Temperatur und Druck, hierauf mit Chlorcalcium und Aetzkalkmilch. Dasselbe scheint eine Anwendung in staatlichen Betrieben (Schwellenimprägnierung) nicht erfahren zu haben. Bei dem Buchner'schen Verfahren folgt einer Kochung des Holzes eine Behandlung mit Chromoxydsalzlösung, wodurch eine Härtung erzielt werden soll. Dasselbe ist praktisch noch nicht erprobt. In Amerika imprägnierte man teils nach Thilmany mit schwefelsaurem Zink oder Kupfer und darauf mit Chlorbaryum oder nach Wellhouse mit Zinkchlorid und Leimzusatz oder mit nachfolgender Imprägnierung mit Leim und dann

mit Tannin. Es werden aber jetzt auch die in Europa gebräuchlichen Methoden angewendet. Die Verfahren nach Haskin, Lebioda, Paradis usw. mögen in der angegebenen Literatur nachgesehen werden.

Strasburger (1) gibt durch seine Ratschläge Anhaltspunkte zu künftigen Verbesserungen von Imprägnierungsverfahren: „Auffrischen der beiden Stirnflächen des Holzes durch Entfernen einer, wenn auch nur wenige Millimeter dicken Holzschicht mit scharfem Schnitt. Einführung der Hölzer in den Imprägnierungscylinder in aufrechter Lage, wobei dafür zu sorgen wäre, daß auch die untere Stirnfläche möglichst frei zugänglich bleibe. Auspumpen und Trocknen der Hölzer in luftverdünntem Raume mit entsprechender Modifikation des Verfahrens, je nach der Natur und dem Zustand der Hölzer. Zu erwägen wäre hierbei, daß es Vorteile gewähren kann, die Hölzer zunächst bei gewöhnlicher Temperatur auszupumpen und hierauf erst die Temperatur zu steigern bis zu derjenigen Höhe, bei welcher die Verdampfung des Wassers der betreffenden Luftverdünnung gemäß erfolgt. Da es unter Umständen, um das Reißen des Holzes zu verhindern, sich auch empfehlen kann, dasselbe in der Imprägnierungsflüssigkeit tauchend auszupumpen und auszutrocknen, so hatte man alsdann darauf zu achten, daß die obere Stirnfläche des Holzes während dieser Operation freibliebe. — Beim Austrocknen der Nadelhölzer müßte eine besonders starke Luftverdünnung angewandt werden, weil die Luft aus denselben, der zahlreichen Schließhäute wegen, am schwierigsten entweicht. Auch müßte man bei Koniferen ganz besonders die Anwendung hoher Temperaturen beim Austrocknen vermeiden, damit das Harz nicht gelöst werde und in die Umgebung nicht diffundiere. Je stärker die Luftverdünnung war, um so niedriger ist der Temperaturgrad, bei dem das Wasser verdampft und ein rasches Austrocknen erzielt wird, so daß durch eine starke Luftverdünnung die beiden erwünschten Vorteile hier zugleich zu erreichen wären. — Nach erfolgtem Auspumpen und Austrocknen des Holzes hätte die Füllung des Imprägnierungscylinders mit der Imprägnierungsflüssigkeit durch den äußeren Druck zu erfolgen. Das Auspumpen des Imprägnierungscylinders müßte bis zu dessen vollständiger Anfüllung mit der Imprägnierungsflüssigkeit fortgesetzt werden. Schließlich käme der übliche Druck von ca. 7 at in Anwendung, um die Injektion zu vollenden."

Literatur

zum Kapitel Holzzerstörende Pilze und Haltbarmachung des Holzes.

*__Albrecht,__ (1) Actis physico-med. Nat. Curios., Bd. 5, S. 482. *__Anonymus,__ (1) Neue Imprägnierungsversuche des Holzes. Neue forstl. Blätter, 1903, S. 297. *__Bary, A. de,__ (1) Bot. Ztg., 1886, Bd. 44, S. 377. — (2) Vergleichende Morphologie und Biologie d. Pilze etc., Leipzig 1884. *__Behrens,__ J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1897, Bd. 3, S. 584. *__Brefeld,__ (1) Unters. aus d. Gesamtgeb. d. Mykologie, 1889, Heft VIII. *__Buresch,__ (1) Der Schutz des Holzes gegen Fäulnis und sonstiges Verderben, 1880. *__Caspary,__ (1) Ueber Peziza aeruginosa. Schrift. d. phys.-ökon. Ges. zu Königsberg 1864. *__Cieslar,__ (1) Ligningehalt einiger Nadelhölzer. Mitt. aus d. Forstl. Versuchsw. Oesterreichs, 1897. *__Czapek,__ (1) Z. f. physiolog. Chem., 1899, Bd. 27, S. 141. — (2) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1899, Bd. 17, S. 166. — (3) Biochemie der Pflanzen, Jena 1905. *__Danckelmann,__ (1) Z. f. Forst- u. Jagdwesen, 1884, S. 343. *__Drude,__ (1) Der Civilingenieur, 1889, Bd. 35, S. 21. *__Ebermayer,__ (1) Physiolog. Chemie der Pflanzen, 1882, S. 705. *__Elfving,__ (1) Studien über die Einwirkung des Lichtes auf die Pilze, 1890. *__Faber, von,__ (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1904, Bd. 22, S. 177. *__Freese,__ (1) Das [illegible] in Paris, Berlin 1891. *__Gayer,__ (1) Die Forstbenutzung 1903. *__Gotschlich,__ (1) [illegible] Hyg., 1895, Bd. 20, S. 502. *__Grafe,__ (1) Sitzber. d. k. Akad. d. Wiss. in Wien,

Abt. 1, 1904, Bd. 113, S. 253. ***Hartig,** R., (1) Die Zersetzungserscheinungen des Holzes der Nadelwaldbäume und der Eiche 1878. — (2) Der echte Hausschwamm (2. Aufl. 1902 mit weiterer Lit.). — (3) Lehrb. d. Anatomie u. Physiologie der Pflanzen, 1891. — (4) Lehrb. d. Pflanzenkrankheiten, 1900. — (5) Forstl.-naturw. Z., 1897, S. 473. — (6) Z. f. Forst- u. Jagdwesen, 1889, S. 457. ***Hartig,** Th., (1) Ueber die Verwandlung der polykotyledon. Pflanzenzelle im Pilz- und Schwammgebilde u. die daraus hervorgehende sog. „Fäulnis des Holzes", Berlin 1833. ***Harz,** (1) Bot. Centralbl., 1888. Mit Lit. über Bergwerkspilze. ***Heck,** (1) Der Weißtannenkrebs, 1894. ***Heinrich,** Placidus, (1) Die Phosphorescenz der Körper. Nürnberg 1815, S. 315. ***Heinzerling,** (1) Konservierung des Holzes. Halle 1885. ***Hennings,** (1) Hedwigia. 1903. Bd. 32; 1904, Bd. 42. ***Herrmann,** (1) Z. f. Forst- u. Jagdwesen, 1902. ***Heß,** (1) Forstbenutzung, 1901. Mit Lit. über Imprägnierung. ***Hoffmann,** (1) Vegetabilia in Hercynia subterr. coll., Nürnberg 1797—1811. ***van Iterson,** C., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904. Bd. 11, S. 689. ***Kalmann,** (1) Färber-Zeitg., 1902, Bd. 13, Heft 16. ***Kohnstamm,** Ph., (1) Beihefte z. Bot. Centralbl., 1901, Bd 10, S. 90. ***Koller,** (1) Imprägnierungstechnik, 1896. ***Lindroth,** (1) Naturw. Z. f. Land- u. Forstwirtschaft, 1904, Bd. 2, S. 393. ***Ludwig,** (1) Lehrb. d. nied. Kryptogamen, 1892. — (2) Z. f. wiss. Mikroskopie, 1884, Bd. 1, S. 181. — (3) Pilzwirkungen, 1882. — (4) Phosphorescenz d. Pilze u. d. Holzes, Diss. 1874. ***Malenković,** (1) Mitt. über Gegenst. des Artillerie- u. Geniewesens, Wien 1902, S. 1065. — (2) Naturw. Z. f. Land- u. Forstw., 1904, Bd. 2. S. 100. — (3) Oesterr. Chemiker-Ztg., 1902, Nr. 19. — (4) Mitt. über Gegenst. des Artillerie- u. Geniewesens, 1904, Heft 4 u. 5. ***Marzel,** (1) Ueber einige durch Pilze verursachte Zersetzungsprozesse des Holzes, Diss., 1882. ***Mäule,** (1) Das Verhalten verholzt. Membranen gegen Kaliumpermanganat, Stuttgart 1901. ***Miyoshi,** (1) Jahrb. wiss. Bot., 1895, Bd. 28, S. 269. ***Möller,** A., (1) Hedwigia, 1903, Bd. 42, S. 9. ***Molisch,** (1) Leuchtende Pflanzen, Jena 1904, daselbst die Lit. ***Paulet,** (1) Traité de la conservation des bois etc., 1874. S. 110. ***Pfeffer,** (1) Pflanzenphysiologie, 1904, S. 853, mit Lit. über Leuchtpilze. ***Potter.** (1) Annals of Bot., 1904, Bd. 18, S. 121. ***Rittmayer,** (1) Centralbl. f. d. ges. Forstw., 1897, S. 343. ***Rostrup,** (1) Plantepatologie, 1902. ***Rudeloff,** (1) Mitt. d. k. techn. Versuchsanstalt der techn. Hochschule Charlottenburg, 1897. ***Schorstein,** (1) Verh. d. zool.-bot. Ges. Wien, 1902, Bd. 52, S. 361. ***Schrenk,** (1) Bull. 36. Bur. of plant Industry. U. S. Dep. of Agr. 1903. ***Schröter,** (1) Flora v. Schlesien. — (2) Jahresb. d. Schles. Ges. f. vaterl. Kultur 1883, S. 202; das. ältere Lit. ***Schwackhöfer,** (1) Konservierung des Holzes; in Loreys Handb. d. Forstw. 1904. ***Strasburger,** (1) Ueber d. Bau u. die Verrichtungen der Leitungsbahnen in d. Pflanzen, 1891. S. 985. ***Tubeuf,** C. **von,** (1) Pflanzenkrankheiten, Berlin 1895. — (2) Naturw. Z. f. Land- u. Forstw., 1903, Bd. 1, S. 249. — (3) Z. f. Forst- u. Jagdw. 1890, Bd. 22, S. 282. — (4) Naturw. Z. f. Land- u. Forstw., 1903, Bd. 1. S. 89. — (5) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 127. ***Tuzson,** (1) Math. u. naturw. Ber. aus Ungarn, 1903. Bd. 19, S. 242. ***Vuillemin,** (1) Bull. de la Soc. des Sciences de Nancy, 1898. 2. sér., S. 90. ***Ward,** (1) Annals of Botany, 1888/89, Bd. 11. S. 346. ***Wehmer,** (1) Chem.-Ztg., 1902, S. 241. ***Wesenberg,** (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 627. ***Wettstein,** R. **von,** (1) Oesterr. bot. Ztg., 1885, S. 151. ***Wiesner,** (1) Sitzber. d. k. Akad. d. Wiss. in Wien, 1864, S. 61, das. ält. Lit. ***Willkomm,** (1) Die mikroskop. Feinde d. Waldes, 1866. ***Zeisel,** (1) Chem. Charakteristik des Holzes; in Wiesner, Rohstoffe des Pflanzenreichs, 2. Aufl., Leipzig 1903, Bd. 2, S. 40.

Vierter Abschnitt.

Mykologie des Wassers.

(*Manuskript-Einlauf: 22. Nov. 1904.*)

12. Kapitel.

Die technisch-mykologische Analyse des Wassers.

Von Dr. Heinrich Wichmann,
stellvertretendem Direktor der Oesterr. Versuchsstation und Akademie f. Brauindustrie in Wien.

§ 88. Entwicklung und Wertschätzung der Methoden.

Die praktisch bedeutsamste Anwendung finden die bakteriologischen Methoden bei der biologischen Wasseranalyse.

Das Wasser in seinen Erscheinungsformen als Grundwasser (Quellen und Brunnen) und Tagwasser (Teiche, Seen, Bäche und Flüsse), sowie als Meerwasser führt unter den mannigfaltigen tierischen und pflanzlichen Formen geringster Größe auch zahlreiche Bakterien, Sproßpilze, Schimmelpilze und verwandte Eumyceten.

Ein Teil dieser Mikroorganismen, wie wir sie kurz zusammenfassend nennen wollen, bewohnt das betreffende Wasser ständig und bildet einen wichtigen, noch wenig gekannten Bestandteil der Flora unserer Gewässer; ein zweiter Teil stammt aus der Erdschichte, welche von dem Wasser durchdrungen oder bespült wird, und ein dritter Teil gelangt mehr zufällig in das Wasser, so mit dem Staube aus der Luft oder als grobe Verunreinigung mit Abfallstoffen verschiedenster Art. Die beiden letzteren Gruppen dauern im reinen Wasser gewöhnlich nicht lange aus, sei es, daß ihnen der Aufenthalt im Wasser überhaupt nicht zusagt, oder daß sie daselbst keine günstigen Lebensbedingungen finden. Sie können aber zeitweilig in großer Zahl in einem Wasser vorhanden sein.

Es werden also neben den das Wasser gewöhnlich bewohnenden Bakterien (Wasserbakterien) vorübergehend auch solche Bakterien gefunden werden, welche z. B. für den Menschen pathogen sind — wie der Erreger der Cholera (*Vibrio cholerae asiaticae*) und der Erreger des Typhus (*Bacillus typhi abdominalis*). Diese beiden Arten gelangen häufig mit den menschlichen Fäkalien in das Wasser, erhalten sich eine Zeit-

lang entwicklungsfähig und sterben verhältnismäßig rasch ab. Gelangen sie aber früher mit dem Wasser wieder in den menschlichen Organismus, so tritt unter den ihnen zusagenden Verhältnissen kräftige Entwicklung ein und sie betätigen ihre Virulenz. Dann war das Wasser die Infektionsquelle. Um solche Infektionen auszuschließen, verlangt die moderne Hygiene für Trinkwasserzwecke eine genaue hygienisch-bakteriologische Analyse des Wassers.

Aus dieser ging die technisch-mykologische Wasseranalyse hervor, deren Weiterbildung aber in anderer Richtung erfolgt ist. Im Grunde genommen handelt es sich wohl auch hier nur darum, die Infektionsgefährlichkeit eines Wassers, des Betriebswassers, festzustellen.

Mit der Kenntnis der Mikroben im allgemeinen wuchs auch die Erkenntnis ihrer Bedeutung für den Menschen, nicht bloß in gesundheitlicher, sondern auch in technisch-gewerblicher Hinsicht, und man erkannte bald, daß es außer technisch wertvollen auch schädliche Mikroorganismen gibt. Die schädlichen Mikroorganismen beeinflussen teils die Tätigkeit der nützlichen störend, sei es durch Entziehung der Nahrung, sei es durch Ausscheidung hemmender Stoffe, teils wirken sie geradezu auf die Rohstoffe und Produkte ein, welche sie verderben oder minderwertig machen. In allen jenen Gewerben, welche auf der Lebensbetätigung von Mikroorganismen begründet sind, so insbesondere in den Gärungsgewerben im engeren Sinne, spielt daher die Erkenntnis dieser Schädlinge eine bedeutende Rolle; sie führte beispielsweise zur Verwendung von Reinzuchten der nützlichen Mikroben um die Schädlinge zu unterdrücken oder auszuschließen und zur ausgebreiteten Anwendung von Pilzgiften (Desinfektion und Konservierung).

Diese technisch wichtigen Mikroorganismen gehören nicht bloß der Gruppe der Schizomyceten an, auf welche die hygienische Wasseranalyse fast ausschließlich Rücksicht zu nehmen hat, sondern weit verbreiteter finden sich Vertreter der Eumyceten (Schimmel- und Sproßpilze). Die technisch-mykologische Wasseranalyse muß sich daher auf alle im Betriebswasser befindlichen Lebewesen erstrecken und hat auf mannigfaltige, besonders in biologischer Hinsicht recht verschieden sich verhaltende Organismen Bedacht zu nehmen — sie heißt daher auch häufig „biologische“ Untersuchung, gleichsam im Gegensatze zur rein bakteriologischen Analyse, welche nur den Bakteriengehalt des Wassers berücksichtigt. In zweiter Linie ist zu beachten, daß dieselben Organismen für die einzelnen Gewerbe verschiedene Bedeutung haben, ferner daß für bestimmte Zweige auch nur bestimmte Organismen wichtig sind, und daß nur gewisse Organismen bei bestimmten Gewerben passende Lebensbedingungen finden.

Schon daraus ergibt sich, daß die technisch-mykologische Wasseranalyse nicht nach einer einheitlichen Methode ausgeführt werden kann, sondern daß sich jeder Zweig der Technik auch seine eigene Methode der Wasseranalyse ausarbeiten muß, welche allen jenen besonderen biologischen Verhältnissen Rechnung zu tragen hat, um die Grundlage für die eigenartige Beurteilung geben zu können. Das Allgemeine soll im folgenden besprochen werden.

Vor allem werden wir zwischen Betriebswasser und Abwasser unterscheiden müssen, und verstehen wir unter ersterem jene Gesamtwassermenge, welche in einem Betriebe Verwendung findet; Abwasser nennen wir hingegen die verschiedenartigsten Wässer, welche bereits

durch den Betrieb gegangen sind und in verschiedenem Grade Verunreinigungen aufgenommen haben, häufig mit Abfallstoffen belastet sind und in der Regel für den betreffenden Betrieb nicht mehr verwendbar erscheinen. Die Abwässer finden eine besondere Besprechung in dem 5 15. Kapitel vorliegenden Bandes.

Das Betriebswasser dient in demselben Betriebe meist mehreren, ganz verschiedenen Zwecken, worauf bei der Beurteilung Rücksicht zu nehmen ist. Naturgemäß wird man der biologischen Untersuchung nur jenes Wasser unterziehen müssen, bei dessen Verwendung die vor- 10 handenen Keime irgendwie im Betriebe zur Geltung kommen könnten: z. B. in einer Brauerei ist bakteriologisch wohl zu untersuchen das Wasser zum Waschen der Gärbottiche, aber nicht das Maischwasser oder gar das Kesselspeisewasser. Stehen mehrere Wässer zur Verfügung, so kann dann auf Grund der biologischen Analyse (unter Berücksichtigung 15 der Resultate der chemischen Analyse) eine Auswahl getroffen werden.

Eine ausführliche wissenschaftliche Untersuchung des Betriebswassers, welche alle Organismen des Wassers umfaßt, wie sie z. B. von Mez (1) dargestellt wird, verschafft uns wohl eine sehr genaue Kenntnis des biologischen Bestandes des betreffenden Wassers, und wir 20 würden imstande sein, aus derselben über die Eignung des untersuchten Wassers für einen bestimmten technischen Zweck zu urteilen. Eine solche „mikroskopische Wasseranalyse“ (so von Mez bezeichnet, richtiger mikroskopisch-biologische) ist sehr umständlich und setzt gründliche Kenntnisse und große Uebung bei dem Ausführenden voraus. Sie ist 25 daher nur in wohl eingerichteten öffentlichen Laboratorien gut durchführbar, weniger passend für den inneren Gebrauch von Fabrikslaboratorien, wo die rasch vorzunehmende Kontrolle des Betriebes in erster Reihe steht. Das umfangreiche Material, welches durch die erwähnte Analyse gewonnen wird, ist auch leicht geeignet zu verwirren, 30 und es gehört zur richtigen Beurteilung ein tieferer Einblick in den Betrieb aller in Frage kommenden Gewerbe. Es ist auch mit Recht einzuwenden, daß trotz der Gründlichkeit nicht unwesentliche Fehler unterlaufen können, da eben infolge des allgemeinen Charakters einer solchen Methode nicht den Bedürfnissen jedes einzelnen Betriebes 35 Rechnung getragen werden kann.

Die Untersuchung wird praktischerweise in eine mikroskopische und eine biologische zerfallen, wenn es sich darum handelt, ein möglichst sicheres Urteil zu gewinnen. Die mikroskopische Untersuchung (bei welcher bloß das Mikroskop zur Anwendung gelangt) erfordert 40 aber so ausgebreitete zoologische und botanische Kenntnisse, wie sie nicht jedem Analytiker zur Verfügung stehen; auch läßt sie einen direkten Erfolg nur bei getrübten oder Absatz bildenden Wässern, in welchen die Fremdkörper eben reichlich vertreten sind, erwarten, so daß bei den meisten klaren Wässern nur die bakteriologische Analyse 45 allein auszuführen sein wird.

Die bequemste bakteriologische Methode, um Spaltpilze und andere Mikroben der Pilzreihe nachzuweisen, ist die Anlegung von **Gelatineplattenzuchten**, die zuerst Rob. Koch (1) eingeführt hatte, und welche die mikroskopische Methode Cohn's (1) für die Wasseranalyse ver- 50 drängte. R. Koch und seine Schule bestimmten die Zahl und die Art der in einem Wasser lebenden Bakterien (resp. deren Keime), indem sie sie in Nährgelatine (Fleischsaftgelatine) zur Entwicklung brachten, wie dies im 22. Kapitel des I. Bandes ausführlich beschrieben ist. Die

zahlenmäßige Feststellung der Menge und Art der Mikroorganismen des Wassers ist auf diesen Platten, wie wir schon dort gehört haben, eine wenig genaue, und jedenfalls ist die Keimzahl und die Zahl der Arten, wie sie auf den Plattenzuchten bestimmt wurde, stets niederer als die der wirklich im Wasser vorhandenen Wesen. Wir wollen uns 5 hier erinnern, daß die Keimzahl durch Zählen der auf der Plattenzucht entstandenen Kolonien ermittelt wird. Diese müssen aber nicht alle aus je einem Keime hervorgegangen sein, sondern es können kleine Keimverbände einer Art oder gar Konglomerate verschiedener Arten zur Aussaat gelangen, wie dies E. Chr. Hansen, J. Chr. Holm, P. Miquel 10 und F. Lafar nachgewiesen haben (vergl. Bd. IV, S. 108). Ferner kommt eine große Anzahl von Keimen auf den Platten gar nicht zur Ansicht, weil sie auf Nährgelatine keine Kolonien bilden, sei es, daß ihnen der Nährboden überhaupt nicht zusagt, sei es, daß sie sich schon im Wasser in einem solch geschwächten Zustande befanden, 15 daß sie auf der Platte keine Vermehrungstätigkeit zu entfalten imstande sind.

Dabei kommt neben der Zusammensetzung auch die allgemeine **Reaktion der Nährböden,** insbesondere der Nährgelatine, in Betracht, und gerade für die Zwecke der Wasseranalyse muß die Nährgelatine 20 nach einer genau einzuhaltenden Vorschrift stets gleich angefertigt werden. Leider ist bisher keiner der Vorschläge bindend angenommen worden, doch folgt man im allgemeinen der Vorschrift von Rob. Koch (1) und Loeffler (1). Der Einfluß der Alkalinität der Nährgelatine auf die Höhe der Keimzahl ist ein ganz wesentlicher. Schon A. Reinsch (1) 25 wies nach, daß die übliche Neutralisation mit Sodalösung nicht entspricht, weil eine schwache Alkalinität der Nährgelatine für die Wasseranalyse nicht genügt, und verlangte einen Natriumkarbonatzusatz von 0,1–0,2 Proz. M. Dahmen (1) stellte dann durch genaue Versuche fest, daß das Maximum der Keimzahl bei einem Sodagehalt von 0,15 Proz. 30 liegt, wie aus folgender Tabelle zu ersehen ist:

Natriumkarbonat:	0,1047	Proz.	Keime pro	1 ccm	122
„	0,1142	„	„	„	189
„	0,1237	„	„	„	262
„	0,1332	„	„	„	553
„	0,1428	„	„	„	672
„	0,1523	„	„	„	687
„	0,1618	„	„	„	680

Von dem letzteren Sodagehalt ab fällt die Keimzahl mit steigender Alkalinität wieder, da bei einem Gehalt von 2—3 Proz. Soda jede Bakterienentwicklung aufhört. In demselben Sinne schlägt W. Migula (1) vor, um immer einen gleichen Alkalinitätsgrad zu erreichen, mit Soda 35 so lange zu neutralisieren, bis blaues Lakmuspapier nicht mehr rot, rotes nicht mehr blau gefärbt wird, und dann noch 10 ccm einer 15-proz. Sodalösung zu 1 Liter Gelatine hinzuzusetzen. Vgl. Bd. I, S. 375 u. f.

Aber wenn auch die Zusammensetzung des Nährbodens kein Hindernis für eine normale Entwicklung bildet, so werden die wachsenden 40 **Kolonien einander gegenseitig beeinflussen** müssen. Hier kommen vor allem die Stoffwechselprodukte einzelner Arten in Frage, welche von den Zellen teils in die Luft, teils in den Nährboden in der Nachbarschaft der Kolonie selbst ausgeschieden werden. Die meisten dieser Ausscheidungsprodukte wirken hemmend, ja tötend auf die Keime 45

anderer Arten, manchmal aber auch fördernd; durch beides kann die Keimzahl wesentlich verändert werden. Als Beispiel für den letzteren, selteneren Fall möchte ich die Essigbakterien erwähnen, welche nur dann auf den Plattenzuchten (mit Bierwürzegelatine) gefunden werden, wenn daneben zahlreiche Hefenkolonien aufgegangen sind; der durch die Hefe gebildete und in die Gelatine diffundierte Alkohol fördert das Auftreten von Kolonien der Essigbakterien, welche allein auf Würzegelatine nicht oder nur sehr kärglich wachsen würden. Abgesehen von dieser physiologischen Beeinflussung wirken die Ausscheidungsstoffe häufig auch rein *mechanisch* auf die Keimzahl ein, wenn durch peptonisierende Ausscheidungen die Gelatine verflüssigt wird und so auf größeren Flächen die Bildung, beziehungsweise Zählung von Kolonien unmöglich wird.

Eine weitere gegenseitige Beeinflussung der auf einer Platte ausgesäten Keime liegt darin, daß es auf gleichem Nährboden *rasch* und *langsam wachsende* Arten gibt. Kommen solche nebeneinander vor, so werden die schnell wachsenden Keime schon durch bloße Entziehung der Nährstoffe die in ihrer nächsten Umgebung langsam wachsenden Keime unterdrücken; diese sind in ihrer Entwicklung nur dann unbehindert, wenn ihnen eine möglichst große Fläche der Gelatine zur Verfügung steht. Solche langsam wachsenden Bakterien sind z. B. *Sarcina (Pediococcus)*-Arten, die man häufig auf schwach besetzten Platten ganz zuletzt auftreten sieht, während sie bei dichtem Kolonienstand meist gar nicht zur Beobachtung gelangen. Gerade dieses Verhältnis hat für die Bestimmung der Keimzahl des Wassers größte Bedeutung, wie Untersuchungen von G. Q. Ruata (1) an 13 Wässern Bolognas zeigen. Ruata gießt Platten nicht mit dem zu untersuchenden Wasser selbst, sondern verdünnt dieses mehrfach nach seiner Erfahrung im Verhältnis von 1 : 10, 1 : 100, 1 : 500, 1 : 1000, 1 : 5000, 1 : 10 000, 1 : 20 000, 1 : 50 000, 1 : 100 000 und bereitet von jeder Verdünnung drei Plattenzuchten mit je 1 ccm verdünntem Wasser. Auf Grund der Keimzahlen auf diesen Platten kommt er zu dem Schlusse, daß bei der biologisch-quantitativen Analyse eines Wassers die Zahl der Kolonien auf jenen Platten am genauesten ist, welche mit der stärksten Verdünnung hergestellt worden sind. Bei den starken Verdünnungen kommen eben entsprechend weniger Keime auf die gleich große Fläche der Gelatineplatte und von den ausgesäten, weit voneinander getrennten finden verhältnismäßig mehr Keime entsprechende Ernährungsbedingungen, so daß sie sich zu Kolonien entwickeln können. Man findet daher auf den Platten der stärkeren Verdünnungen absolut genommen nur unbedeutend weniger Kolonien, nicht selten mehr als auf den der schwächeren Verdünnungen; die Keimzahl bezogen auf 1 ccm unverdünnten Wassers dagegen ist eine wesentlich höhere (und natürlich richtigere), wie aus nebenstehender Tabelle ersehen werden kann.

Die Dichte der Kolonien auf der Platte ist also ebenfalls von Einfluß auf die Keimzahl, und man wird bei geringerer Besiedlung der Plattenzucht ein richtigeres Endresultat erwarten dürfen, wie ja schon Miquel (1) diejenige Platte als die beste für die Zählung hält, auf der sich 1—5 Keime entwickelt haben.

Mit dem ungleich schnellen Wachstum, welches einerseits in ungleich großen Kolonien, andererseits in dem zeitlich verschiedenen Erscheinen der Kolonien auf den Plattenzuchten seinen Ausdruck findet, steht ebenfalls die Keimzahl im Zusammenhange, insofern als sie um so

Nummer des Versuches	Verdünnung der Wasserprobe	Auf den Platten mit diesen Verdünnungen gefundene Kolonien	Im unverdünnten Wasser pro 1 ccm sind enthalten Keime
VIII.	1 : 100	184	19 400
	1 : 1000	19	19 000
	1 : 10 000	4	40 000
	1 : 100 000	3	300 000
IX.	1 : 100	113	11 300
	1 : 1000	12	12 000
	1 : 20 000	6	120 000
IV.	1 : 10	438	4 380
	1 : 1000	31	3 100
	1 : 10 000	29	29 000
	1 : 100 000	80	800 000

höher ausfällt, je später die Zählung vorgenommen wurde. Die „Inkubationszeit“, d. h. die Zeit, welche zur Kolonienbildung aller entwicklungsfähigen Keime auf der Plattenzucht notwendig ist, wird übereinstimmend von den Autoren (Miquel [1], Abba [1]) mit 15 Tagen angegeben. Wenn die Platten vor Ablauf der Inkubationszeit gezählt werden müssen, erhält man zu niedrige Keimzahlen.

Bei der Wichtigkeit, welche die Temperatur für das Leben der Mikroorganismen hat, kommt ihr bei der biologischen Wasseranalyse gerade auch mit Bezug auf die Keim- und Artenzahl größere Bedeutung zu, denn nur jene Keime werden gut Kolonien bilden, deren Wachstumsoptimum in der Nähe jener Temperatur liegt, bei welcher wir die Plattenzuchten vor der Zählung halten. Selbstredend kommen auch alle jene Keime auf den Platten nicht zur Zählung, welche anaeroben Arten zugehören, da der Luftsauerstoff die Gelatineschichte bei ihrer geringen Dicke ganz durchdringt und die Entwicklung der Anaeroben zur Kolonie unterbindet.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß gewisse Arten von Bakterien und Eumyceten auf den Plattenzuchten nicht beobachtet werden. Es mußte daher bereits die hygienisch-bakteriologische Wasseruntersuchung, obwohl dieses Verfahren ihren Ansprüchen sonst am besten entspricht, eigene Spezialverfahren zuhilfe nehmen, sobald es sich darum handelte, bestimmte pathogene Bakterien im Wasser nachzuweisen, teils um den Einflüssen des Nährbodens, teils um der Konkurrenz der Arten zu begegnen. Es geschieht dies durch die Anwendung von „elektiven“ Nährböden, welche aus den im Wasser vorhandenen Bakterien gleichsam nur diejenigen auswählen, auf die wir prüfen wollen, oder durch ein Anreicherungsverfahren, bei welchem der Nährboden und die übrigen Züchtungsbedingungen so gewählt sind, daß sich nur bestimmte Keime reichlich vermehren und so leichter auf den darauf folgenden Plattenzuchten gefunden werden; man nennt diese vorbereitenden Züchtungen auch Vorkultur. Für jede Bakterienart, wie die des Typhus, der Cholera, des Milzbrandes etc., muß naturgemäß ein anderes Verfahren eingehalten werden.

In ähnlicher Weise wird man für technische Zwecke das Plattenverfahren durch entsprechende Abänderung des Nährbodens mit Gelatine- oder Agar-Zusatz dem Endzwecke anpassen müssen; denn die Fleischsaft-Gelatine wurde seinerzeit von Koch mit besonderer Berücksichtigung der pathogenen Bakterienarten, die auf derselben gemeiniglich gut wachsen, als Nährboden eingeführt. Die technische Mykologie hat erfolgreich für die Zwecke der Wasseranalyse zu solchen Nährböden gegriffen, welche aus dem in Frage kommenden Betrieb selbst stammen, so z. B. die Brauerei zur gehopften Bierwürze mit Gelatine, die Brennerei zur klaren gesäuerten Maische mit Gelatine usw. Es muß betont werden, daß sich die Wahl eines neuen Nährbodens unbedingt auf die Mykologie des betreffenden technischen Zweiges stützen muß und nicht kritiklos angenommen werden darf, auch wenn der Nährboden nach allgemeinen Gesichtspunkten entsprechen könnte. Besonders zu beachten ist schon die Reaktion des Nährbodens, da gerade in dieser Hinsicht die Mikroorganismen, wie schon früher erwähnt, höchst empfindlich sind, so daß gewisse Arten ausschließlich auf alkalischem, andere bloß auf saurem Nährboden und nur wenige auf beiden gleichmäßig gut gedeihen.

In vielen Fällen wird man bessere Resultate erzielen, wenn man von der Plattenzucht mit festen Nährböden absieht und die durch die schädlichen Mikroben bedrohten Flüssigkeiten (Bier, Bierwürze, Maische, Milch, Most, Zuckerlösungen u. ä.) selbst als **Nährflüssigkeit** benützt. Man ahmt so im kleinen den praktischen Fall nach und infiziert künstlich mit dem fraglichen Wasser, als dem Träger der Schädlinge, indem man überdies die Entwicklung der Mikroorganismen durch das Temperaturoptimum begünstigt, was bei Gelatinenährböden nicht immer möglich ist. Es werden sich in diesen Flüssigkeiten nur jene Keime vermehren und als Pilzmasse auf dem Grunde oder an der Oberfläche der Flüssigkeit, als Trübung, als Zersetzung in Erscheinung treten, welchen sie als Nahrung zusagen. Nur solche Keime aber können dem Betriebe schädlich werden; alle anderen, die in der Versuchsflüssigkeit nicht zur Entwicklung gelangen oder gar in derselben zugrunde gehen, sind indifferent für die betreffende Flüssigkeit, mögen sie auch auf dem Nährboden der hygienischen Wasseranalyse, auf Fleischsaftgelatine, in sehr großer Zahl auftreten.

Wenn wir mit dieser Flüssigkeitsmethode noch eine entsprechende Verdünnung des Wassers verbinden, so erhalten wir auch ohne Zählung mittelst Plattenzuchten einen Einblick in das *Mengenverhältnis der schädlichen* Organismen.

Die Verwendung von Nährflüssigkeiten hat noch den weiteren, nicht zu unterschätzenden Vorteil, daß manche Organismen hier zur Geltung kommen, welche sich auf den festen Nährböden überhaupt nicht zu entwickeln vermögen. Außerdem kann man bei der Züchtung in den Flüssigkeiten Beobachtungen über gewisse *Begleiterscheinungen* machen, welche sich auf den Plattenzuchten nicht einstellen, uns aber Aufschluß über Gärvermögen, Säurebildung u. dgl. geben, was für die Beurteilung eines Wassers für bestimmte Zwecke oft sehr wichtig ist. Auch erspart man sich häufig specielle Züchtungsversuche, wie sie bei weiterem Studium der auf den Platten aufgetretenen Kolonien in der Regel angestellt werden müssen, da jene Nebenerscheinungen meist ausreichend über die Wirksamkeit der Mikroorganismen in einer bestimmten Flüssigkeit aufklären.

Naturgemäß haftet auch dieser Methode mancher Fehler an, so der,

daß nicht alle Schädlinge gleichmäßig zur Entwicklung und Ansicht gelangen, sondern meistens nur der kräftigste. Eine genaue Bestimmung aller dieser ist wohl nur selten erforderlich, denn es genügt die Konstatierung eines solchen Schädlings, um die Unbrauchbarkeit eines Wassers für eine bestimmte technische Verwendung zu erweisen. 5

Am vorteilhaftesten erscheint mir eine sachgemäße Verbindung des Plattenverfahrens mit der „Kölbchenkultur" — so nannte man die Méthode, welche Flüssigkeiten (in Kölbchen!) als Nährböden für die Wasseranalyse anwendet.

§ 89. Ausführung der biologischen Wasseranalyse. 10

Eine technisch-mykologische Untersuchung des Wassers wird sich ungefähr so gestalten: 1. Plattenzucht, 2. Kölbchenzucht, 3. Mikroskopische Untersuchung des Absatzes (Dépôt) der Probe.

Die Ausführung der **Plattenzucht** folgt im allgemeinen den früher (s. 22. Kap. d. I. Bds.) angegebenen Regeln, und es möge an dieser 15 Stelle nur einiges Besprechung finden, was Wert für die besonderen Zwecke der Wasseranalyse haben kann.

Statt der ebenen, Koch'schen Glasplatten gebraucht man heute wohl ganz allgemein die kleinen Doppelschalen, welche unter dem Namen Petri-Schalen gehen, und sieht von den zahlreichen anderen Gefäßformen 20 (Esmarch-Rollröhrchen, Lipez-Glas, Soyka- und Roszahegyi-Flasche, Kowalski-Kolben u. ä.), welche neben gewissen Vorteilen stets auch große Nachteile besitzen, ganz ab. Letztere Abänderungen wurden meist für den Fall getroffen, als die Platten außerhalb des Labo- 25 ratoriums an Ort und Stelle der Probenahme gegossen werden müssen. Für diesen Zweck, aber auch sonst für recht vorteilhaft halte ich Doppelscha- 30 len, wie sie im Laboratorium des kgl. preuß. Kriegsministeriums gebräuchlich sind (*Fig. 73*) und etwas den Babes-Schalen ähneln, doch ist der 35 Rand der Unterschale falzförmig eingezogen. Deckel- und Bodenstück der Schale haben den gleichen Durchmesser und werden durch eine breite Gummispange zusammengehalten, welche auch den Spalt dicht abschließt.

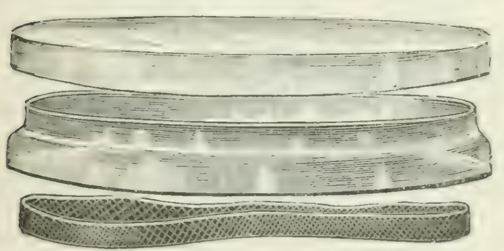


Fig. 73. Doppelschale für Plattenzuchten des Königl. preuß. Kriegsministeriums.

Von jeder Probe werden mehrere Platten gegossen; es genügen ge- 40 wöhnlich drei mit verschiedenen Wassermengen, und zwar ist es üblich, 1 ccm, 0,25 ccm, 0.1 ccm oder 0,05 ccm zu nehmen, um auch bei höherem Keimgehalte auszählbare Platten zu erhalten. Das Abmessen so geringer Bruchteile des Kubikzentimeters bildet eine Schwierigkeit, welche durch genaue Teilung und enge Ausflußöffnung der Pipette, so daß pro 45 1 ccm 20—30 Tropfen ausfließen, teilweise überwunden werden kann. Besser ist es, den Vorschlägen von Mez, Miquel und Ruata zu folgen und statt direkt 0.05 oder 0.1 ccm Wasser auszusäen, die Probe mit sterilem Wasser zu verdünnen und von dieser Verdünnung Platten mindestens mit je 1 ccm zu gießen. Man erhält so nicht bloß aus den 50

auf S. 338 auseinandergesetzten biologischen Gründen eine genauere Keimzahl, sondern auch aus einem rein mechanischen Grunde, weil sich ja die Verbände von Keimen durch das Mischen mit dem sterilen destillierten Wasser leichter auflösen als durch Schütteln des Wassers selbst.

Dieses *Schütteln der Wasserprobe*, welches meist empfohlen wird, ist von zweifelhaftem Werte. Wird das Wasser sofort nach der Probenahme in Arbeit genommen, so ist das Schütteln überflüssig, und ist die Probe längere Zeit vorher ruhig gestanden, so ist eine Vermehrung der schnellwachsenden Keime eingetreten, deren Zooglöen dann zu Boden sinken. Durch das Schütteln werden sie nicht nur aufgewirbelt, sondern auch zerteilt, was weiterhin auf den Platten zu viel zu hohen Keimzahlen führt und die Ernährungsbedingungen für andere Arten ganz bedeutend herabsetzt; dies gilt vornehmlich von den gemeinen verflüssigenden Wasserbakterien. Ferner kommt es sehr häufig vor, daß auch bakterienarme Wässer, z. B. Quellwässer, als zufällige Verunreinigung Fragmente verwesender Pflanzenstoffe führen, welche, wie eine mikroskopische Betrachtung leicht erweist, dicht mit Bakterien durchsetzt sind. Wird eine solche Probe stark geschüttelt, so werden diese Keime von ihrer Unterlage losgelöst, und die hohe Keimzahl, die man auf der Plattenzucht erhält, läßt vielleicht das Wasser ungerechtfertigt als ganz unbrauchbar erscheinen. Ich möchte mich daher unbedingt dagegen aussprechen, daß man die Probe „kräftig einige Minuten aufschüttelt“, und nur empfehlen, eine gleichmäßige Verteilung der Keime durch Schwenken der Wasserprobe herbeizuführen, vorausgesetzt, daß keine abgesetzten Teilchen zu bemerken sind; dann ist das Mischen besser ganz zu unterlassen. Am sichersten ist es, mit der Untersuchung sofort nach der Probenahme zu beginnen.

Es braucht wohl nicht besonders hervorgehoben zu werden, daß alle *Geräte*, die in Verwendung kommen, *steril* sein müssen, ebenso sind die *Hände* mit Seife, Bürste und Sublimat zu reinigen und auch die Tischplatte, auf welcher die Analyse durchgeführt wird, mit Sublimat abzuwaschen. Die Glasplatte des Nivellierständers, die Mündung der Probeflasche etc. sind abzuflammen, kurz es sind alle Vorsichtsmaßregeln sterilen Arbeitens genau einzuhalten. Beachtenswerte Winke in dieser Richtung finden sich bei Mez (1).

Als *Nährboden* für die Plattenzuchten verwenden wir in erster Linie eine im speziellen Betriebe selbst entnommene Nährflüssigkeit, welche mit 10 Proz. Gelatine oder etwas mehr versetzt wurde, dann auch Fleischsaftgelatine. Mit letzterer sind Plattenzuchten unbedingt notwendig, wenn das Betriebswasser gleichzeitig auch als Trinkwasser dient, da dann die Analyse gewissermaßen auch auf das hygienische Gebiet ausgedehnt werden muß. Wichtig sind sie bei Wasseruntersuchungen für solche Betriebe, welche selbst Infektionen verursachen können (Gerberei), oder solche, in denen Fäulnisbakterien größere Bedeutung besitzen. In solchen Fällen wird man auch eine jener Vorkulturen oder *Sonderzuchten* anlegen, welche für pathogene Bakterien vorgeschrieben sind, doch werden die auf diese Weise erhaltenen verdächtigen Keime einem Untersuchungsamte für Infektionskrankheiten zur näheren Bestimmung zu übermitteln sein. Auf die Auswahl der „technischen Nährböden“ ist größte Sorgfalt zu verwenden und sind alle Gesichtspunkte zu erwägen, da der Nährboden für den Wert der Analyse ausschlaggebend ist. Der Gelatinenährboden, zu je 5—10 ccm (je nach dem Durchmesser der Zuchtschale) in starkwandige Eprouvetten (Reagens-

gläser) gefüllt, wird in entsprechender Anzahl in einem Wasserbade von 30—40° C verflüssigt und bis zum Gebrauche flüssig erhalten. Will man auch Verdünnungen der Wasserprobe vornehmen, so hat man noch einige Kölbchen bereitzustellen, welche steriles Wasser in genau abgemessenen Mengen enthalten. Die Meßpipetten verwahrt man in 5 einem weiten, an einem Ende zugeschmolzenen Glasrohre, welches mit einem Wattepfropf verschlossen ist. Zum Schutze der Spitzen der Pipetten befindet sich im geschlossenen Ende des Hüllrohres ein Bausch von wolligem Asbest. Ein solches Glasrohr besitzt einige Vorzüge gegenüber der gewöhnlich verwendeten Blechhülse, vorzüglich ist es 10 sauberer und man kann bei Pipetten mit verschiedener Teilung die richtigen auswählen, ohne sie herausnehmen oder vorher sortieren zu müssen. Die Doppelschalen, welche hie und da zum Sterilisieren in Blechbüchsen eingestellt werden, können vor Verstauben, d. i. also vor Infektion geschützt werden, wenn man sie vor dem Sterilisieren in 15 billiges Filtrierpapier briefartig einwickelt und so verpackt aufbewahrt.

Außer den genannten Utensilien benötigt man noch einen (im 22. Kapitel des I. Bandes schon beschriebenen) Nivellierständer mit Kühlvorrichtung, auf dessen Platte unter der Glasglocke drei Doppelschälchen nebeneinander Platz haben; Fettstift zum Schreiben auf 20 Glas, Pinzette, sterile Baumwolle sollen immer zur Hand sein.

Nachdem alles vorbereitet ist, kann man das **Plattengießen** vornehmen. Man zieht eine Pipette ohne die anderen zu berühren aus dem Glasrohre, nimmt in die linke Hand eine Eprouvette mit Gelatine, deren Pfropf man schon vorher gelüftet hat, öffnet das Probegefäß und 25 hebt ungefähr aus der Mitte der Probe durch behutsames Ansaugen einige Kubikcentimeter Wasser heraus, stellt auf eine Marke ein und läßt eine genau abgemessene Menge in die Gelatine einfließen; der Wattepfropf wird während dessen zwischen Ring- und kleinem Finger der rechten Hand gehalten. Jetzt mischt man durch Neigen und Drehen 30 das Wasser gut in die Gelatine ein, vermeidet zu schütteln, weil dies die Bildung störender Luftblasen verursacht, nimmt ein Doppelschälchen hervor, brennt in der Flamme die Mündung der Eprouvette ab, öffnet dieselbe in möglichst geneigter Lage und gießt die Gelatine in das Schälchen, dessen Deckel man genau darüber hält und nur soweit lüftet, 35 um die Eprouvette einführen zu können. Man trachte, die Gelatine vollständig und restlos hineinzubekommen, da sonst eine größere Zahl von Keimen mit der Gelatine in der Eprouvette zurückbleiben würde. Die Gelatine wird nun durch Hin- und Herneigen am Boden der Schale ausgebreitet und zum Erstarren auf die horizontal gestellte Platte des 40 Nivellierständers gebracht, wo sie rasch fest wird. Diesen Vorgang wiederholt man mit jeder Abmessung, eventuell mit jeder Verdünnung.

Da diese Vorschrift kein streng einzuhaltendes Rezept darstellt, von welchem nicht abgewichen werden darf, sondern Abänderungen gestattet sind, wofern nur der Endzweck ohne Arbeitsinfektion erreicht 45 wird, möchte ich eine etwas einfachere Methode des Plattengießens schildern, welche sich in unserem Laboratorium seit Jahren bewährt hat.

Soviele Glasschalen, als Platten gegossen werden sollen, legt man vor sich auf den Tisch, bemerkt auf der Deckelschale mittels Fettstiftes 50 die auszusäende Menge, zieht mit der entsprechend großen Pipette Wasser aus dem Probegefäß und läßt sofort in jede Glasschale die genau abgemessene Wassermenge tropfenweise einfließen. Dann

fügt man die bei 40° C (nicht höher!) verflüssigte Gelatine hinzu: die Eprouvette wird aus dem Wasserbade herausgenommen und abgetrocknet, der durch Drehen gelockerte Wattepfropf bei fast wagrechter Lage der Eprouvette herausgezogen, die Mündung durch Rollen in der Flamme sterilisiert und die Gelatine neben das Wasser in die Schale gegossen. Durch sanftes Hin- und Herschwenken vermischt man das Wasser mit der Gelatine und verteilt diese durch mehrmaliges Neigen auf der Schale. Dann wird die zweite, dritte u. s. f. Platte gegossen. Diese Methode vermeidet ein öfteres Oeffnen des Probegefäßes und der Gelatineröhrchen, sowie das lange Offenhalten der letzteren in senkrechter Stellung, während das Wasser eingemessen wird; beim Ausgießen kann der überhitzte Rand nicht schaden, man ist also nicht genötigt, so lange mit dem Ausgießen der Gelatine zu warten, bis er erkaltet ist. Weiter vermeidet man eine wohl sonst vernachlässigte Fehlerquelle, welche dadurch entsteht, daß von der mit den Keimen vermischten Gelatine eine beträchtliche Menge beim Ausgießen an der Wandung der Eprouvette haften bleibt, diese Keime also nicht auf die Platte kommen, während bei der direkten Aussaat des Wassers in die Schale hier alle Keime vereinigt sind. Zu beachten wäre nur, daß die Doppelschalen z. B. im Winter nicht zu kalt sind, da die Gelatine sonst zu rasch zähe wird, bevor man noch eine ordentliche Vermischung erzielt hat.

Ist die Gelatine auf der Kühlvorrichtung erstarrt, so werden die Doppelschalen mit der genauen Bezeichnung der Probe, des Nährbodens und der Wassermenge am Rande versehen und bei 20° C aufgestellt. Die kleinen Petrischalen bedeckt man mit einer Glasglocke, die vom Typus der Babes-Schalen verschließt man mit in Sublimat eingelegten Gummispangen; hat man Doppelschalen von größerer Höhe (2 cm) und größerem Durchmesser (innere 13 cm, äußere 16 cm) im Gebrauche, so kehrt man sie um, so daß die kleinere mit der Plattenzucht (die Gelatineschicht nach abwärts gekehrt) in der größeren steht, und gießt in diese etwas Sublimatlösung (1 : 1000) zur Herstellung eines keimdichten Wasserverschlusses.

Die Temperatur von 20—22° C begünstigt auf Nährgelatine besonders das Wachstum von verflüssigenden Wasserbakterien und verflüssigenden Fluorescenten, sowie von Fäulnisbakterien, so daß die Platten oft schon am 2. oder 3. Tage gezählt werden müssen, da sie späterhin ganz zerfließen. Auch steigt im Sommer die Zimmertemperatur häufig über 25°, wo bereits ein starkes Weichwerden der Gelatine zu bemerken ist. Die Plattenzuchten werden daher am besten in einem durch Eis gekühlten Schrank bei 15—16° C aufgestellt, welche Temperatur die Entwicklung der eigentlichen Wasserbakterien noch nicht beeinträchtigt, oder man benutzt einen Brutschrank für niedere Temperaturen.

Sobald man bei der täglichen Durchmusterung der Platten wenigstens mit der Lupe wahrnehmbare Kolonien bemerkt, beginnt man mit dem Zählen. Ist die Kolonienzahl auf der Platte nicht bedeutend, so zählt man am besten alle vorhandenen Kolonien, nachdem man sich zur Erleichterung mittels Fettstiftes auf der Schale zarte Linien in Abständen von ungefähr 2 cm gezogen hat. Sind die Platten dicht besetzt, so wird man zur Erleichterung der Auszählung sich einer Zählplatte bedienen. Für den Fall, als man die Zuchten in runden Schalen angelegt hat, wird man zu der schon im 22. Kapitel des I. Bandes angegebenen Platte mit Sektorenteilung greifen. Hat man jedoch aus irgend einem besonderen Grunde die Zuchten auf rechteckigen flachen Glasplatten

nach KOCH, dann wird man den Zählapparat von WOLFFHÜGEL gebrauchen. Er besteht (*Fig. 74*) aus einem Holzrahmen, in welchem eine aus Schwarzglas oder aus Ebonit hergestellte quadratische Platte von ca. 15 cm Seitenlänge eingelassen ist. Auf diese wird die auf ihre Kolonienzahl zu prüfende KOCH'sche Platte gelegt. In geringer Entfernung über dieser wird auf niedrigen Füßchen eine Spiegelglasplatte von ca. 17 cm Seitenlänge angebracht, in welche eine Teilung in 12 mal 12 qcm eingeätzt ist. Mit Hilfe dieser Vorrichtung zählt man eine Anzahl von Quadratcentimetern der Gelatineschicht auf Kolonienzahl aus, zieht daraus das Mittel pro 1 qcm und multipliziert es mit dem Gesamtflächeninhalt in Quadratcentimetern, welchen die Schicht auf der Platte bedeckt, um so rechnerisch die Gesamtzahl der Kolonien auf dieser zu bestimmen. Manche ziehen eine Abänderung dieses Zählapparates vor, welche darin besteht, daß das Netz von Quadratcentimetern in die schwarze Unterlagsplatte eingeätzt ist; der geringere Abstand zwischen Teilung und Kolonienschichte gewährt größere Sicherheit beim Zählen.

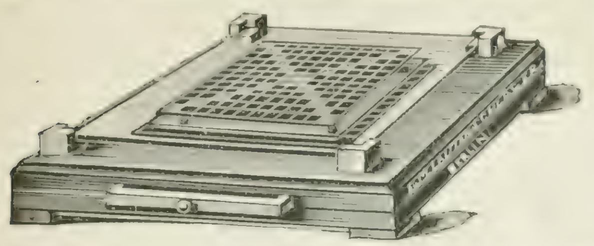


Fig. 74. Zählapparat nach WOLFFHÜGEL für Plattenzuchten.

Ueber den Zusammenhang von **Zeit der Zählung** und **Keimzahl** wurde das Wichtigste schon oben (S. 339) gesagt und auf den Fehler hingewiesen, welcher durch vorzeitiges Zählen entsteht. Um denselben auszugleichen wird von MIQUEL vorgeschlagen, das Resultat der verfrühten Zählung mit einem dem Zählungstage entsprechenden Faktor (f) zu multiplizieren um zur richtigen Keimzahl zu gelangen. ABBA zählt zur gefundenen Kolonienzahl (z) noch ein durch 100 dividiertes Produkt aus dieser Zahl (z) und einem vom 1.—15. Tage immer kleiner werdenden Faktor (s) hinzu, so daß also die wahre Keimzahl (k) durch die Formel $k = z + \frac{z\,s}{100}$ gegeben ist. Die Faktoren dieser beiden Forscher sind nachfolgend zusammengestellt:

Tag	MIQUEL $f =$	ABBA $s =$	Tag	MIQUEL $f =$	ABBA $s =$
1	50,000	99	9	1,224	24
2	7,353	78	10	1,164	20
3	3,937	70	11	1,121	13
4	2,584	57	12	1,086	7
5	1,887	48	13	1,052	5
6	1,570	41	14	1,024	2
7	1,379	37	15	1,000	0
8	1,282	30			

Bei der Umrechnung der auf den einzelnen Platten mit verschiedenen Wassermengen gefundenen Keimzahl (Kolonienzahl) auf die Keimzahl pro 1 ccm Wasser, welche Menge man als Einheit für den Keimgehalt eines Wassers aufgestellt hat, geht man am besten so vor, daß man die gezählten Kolonien (z) einerseits und die ausgesäten Wasser-

mengen (w) andrerseits addiert und aus den Summen (z und w) die Keimzahl pro 1 ccm (k) rechnet, z. B.

Platte a:	Kolonienzahl	2540;	Wassermenge	1,00 ccm
„ b	„	682	„	0,25 „
„ c	„	305	„	0,10 „
		$z = 3527$		$w = 1,35$

also $k = \frac{z}{w} = 2620$ pro 1 ccm.

Diese Berechnungsart benützt nur die Zahl der Kolonien aus der tatsächlich verwendeten Wassermenge und leidet nicht unter dem Fehler, welcher entsteht, wenn man die Kolonienzahl jeder Platte auf 1 ccm umrechnet und daraus das Mittel nimmt, also in obigem Beispiele:

$$
\begin{array}{lrcrcr}
\text{Platte } a: & 2540 & \times & 1 & = & 2540 \\
\text{„} \quad b: & 682 & \times & 4 & = & 2728 \\
\text{„} \quad c: & 305 & \times & 10 & = & 3050 \\
 & & & & & 8318:3 \\
 & & & & k = & 2773
\end{array}
$$

Daß auf den Plattenzuchten mit wenig Wasser verhältnismäßig höhere Zahlen erhalten werden, wird jedem Bakteriologen schon aufgefallen sein und erklärt sich leicht nach den schon auf S. 338 angegebenen Beobachtungen RUATA's: auf der weniger dicht besäten Platte finden verhältnismäßig mehr Keime günstige Lebensbedingungen.

Neben der Kolonienzählung zur Ermittlung der Keimzahl wird man auch die Artenzahl zu bestimmen trachten, deren Wert für die Beurteilung des Wassers allerdings neuerlich wieder in Zweifel gezogen wird. Ueberhaupt nähert man sich mit diesem Versuche schon der wissenschaftlichen Artbestimmung, welche über den Rahmen eines technischen (Betriebs-)Laboratoriums hinaus geht und eben einen geschulten Bakteriologen verlangt. Jedenfalls hat man bei der Durchmusterung der Platte auf Arten nur jene Kolonien zu berücksichtigen, die sich oberflächlich entwickelt haben, denn nur an diesen lassen sich diejenigen Erscheinungen wahrnehmen, welche für die Verschiedenheit der Art sprechen; es sind dies, abgesehen von der Verflüssigung der Gelatine, die Form der Kolonie, die Dicke des Belages, Beschaffenheit des Randes und der Oberfläche, Farbstoffproduktion. Die sogen. versenkten (tief liegenden) Kolonien besitzen bei den verschiedensten Arten das gleiche Aussehen und lassen Unterschiede nur bei mikroskopischer Beobachtung erkennen.

Die Plattenzuchten können noch als grundlegend für die Aufsuchung von solchen Mikroorganismen dienen, welche für den betreffenden technischen Zweck von besonderer Wichtigkeit sind, in ähnlicher Weise wie ja auch der Hygieniker auf den Platten nach solchen nicht pathogenen Arten sucht, welche ihm Anhaltspunkte für die Beurteilung des Wassers geben können. Ueber den hierfür einzuschlagenden Weg, über das Abimpfen der Kolonien von den Plattenzuchten, Anlage von Stich- und Strichzuchten, über die Anwendung solcher Nährböden, welche diagnostische Merkmale erschließen (s. 22. Kap. d. I. Bds.), kurz über den ganzen langen Weg, welcher eingeschlagen werden muß, wenn eine Bakterienart bestimmt werden soll, muß auf die betreffenden Handbücher verwiesen werden. Manche sind nach Art floristischer Bestimmungs-

bücher eingerichtet. Zu nennen wären die von MIGULA (2), LEHMANN und NEUMANN (1), BLÜCHER (1), MATZUSCHITA (1), MEZ (1) und für die mikroskopische Bestimmung HAGER und MEZ (1).

Das oben über Keim- und Artenzahl Gesagte gilt wohl in erster Linie für die Platten mit Fleischsaftgelatine, unter gleichen Umständen aber auch für die Plattenzuchten mit den besonderen Nährgelatinen; nur darf man hierbei nie vergessen, daß man elektive Nährböden verwendet, auf welchen eben nur diejenigen wenigen Arten erscheinen können, welche durch den betreffenden Nährboden begünstigt werden.

Die **Kölbchenzucht** ist noch nicht so gut durchgearbeitet wie die Plattenzucht, mit Ausnahme derjenigen für Brauereiwässer (s. Bd. V, S. 185 u. f.). Zur Aufnahme der Nährflüssigkeiten gebrauchen wir am liebsten sogen. FREUDENREICH-Kölbchen (*Fig. 75*), zylindrische Fläschchen, welche mit einer helmartigen, aufgeschliffenen Kappe verschlossen sind, die sich in ein dünnes mit Watte locker verstopftes Röhrchen fortsetzt. Statt dieser Kölbchen, welche ziemlich teuer sind, verwendet man auch kleine Kochkölbchen von der gewöhnlichen Form oder ERLENMEYER-Kölbchen, ja auch sehr kleine Medizinfläschchen; manche füllen auch die Nährflüssigkeiten in Reagensgläser (Eprouvetten). Das Arbeiten mit allen diesen ist aber wegen des Wattepfropfen etwas unbequem, am unbequemsten mit den Eprouvetten, da unbedingt Gestelle oder Behälter nötig sind, welche auch sehr viel Raum wegnehmen; so im Brutschranke. Die FREUDENREICH-Kölbchen haben den großen Vorteil, daß die Mündung durch die Kappe bedeckt vor Luftinfektion geschützt ist, daher nicht abgeflammt zu werden braucht; auch ist ein Benetzen des Wattepfropfens beim Schütteln fast ausgeschlossen. Dagegen fallen die Kölbchen, weil zylindrisch, sehr leicht um, wogegen man sich vorsehen kann, indem man einen Satz solcher Kölbchen in passend große Blechtassen einsetzt oder Holzklötze mit Bohrungen (ähnlich wie für die Fläschchen für Farblösungen etc.) verwendet. Beim Ein- und Abimpfen ist man dann auch nicht genötigt, die Kölbchen in die Hand zu nehmen, sondern man hebt die schon vorher gelockerte Kappe nur senkrecht in die Höhe, wobei sie gleichsam ein Schutzdach gegen niederfallende Luftkeime bildet. Die FREUDENREICH-Kölbchen von ca. 25 ccm Gesamtinhalt werden mit je 10 ccm Nährflüssigkeit gefüllt und in der Regel im strömenden Dampf sterilisiert. Doch richtet sich die Art und Dauer des Sterilisierens ganz nach der Eigenart der Flüssigkeit, und es ist darauf zu achten, daß diese durch das Sterilisieren keine tiefer eingreifende Veränderung erfährt, welche den Hauptzweck ihrer Anwendung vereiteln würde, das ist, zu ermitteln, in welcher Weise sich das Wasser, bezw. die in dem Wasser enthaltenen Mikroorganismen, gegen ein bestimmtes flüssiges Produkt eines Betriebes verhalten. Es ist stets eine größere Anzahl von Kölbchen mit dem Wasser zu versetzen, um der ungleichen Verteilung schädlicher Keime zu begegnen. Durch den Wasserzusatz darf keine zu große Verdünnung der Nährflüssigkeit herbeigeführt werden, denn verdünnte Flüssigkeiten besitzen weniger Widerstandskraft gegen Mikroorganismen als konzentrierte; die Verdünnung soll also jenes Maß nicht wesentlich überschreiten, in welchem ein zufälliger oder beabsichtigter Zusatz im



Fig. 75. FREUDENREICH-Kölbchen.

Betriebe erfolgt. Bezüglich der Beobachtungstemperatur wäre zu bemerken. daß man im allgemeinen das gewöhnliche Vegetationsoptimum von 25° C benutzt. doch kann man besser noch eine Temperatur wählen, welche den Verhältnissen des Betriebes genau angepaßt ist.

5 Einige Zeit nach der Einsaat des Wassers in die Kölbchen sieht man bei der täglichen Durchmusterung Veränderungen in den Nährflüssigkeiten auftreten. welche durch die Entwicklung der Mikroben herbeigeführt werden. Am häufigsten tritt Trübung ein. und es sollen deshalb die Nährflüssigkeiten klar sein. was aber nicht bei allen möglich 10 ist. wo dann die mikroskopische Prüfung über die Entwicklung der Mikroorganismen Aufschluß geben wird. Als Nebenerscheinung beobachtet man das Auftreten von Riechstoffen, welche gewisse Zersetzungen charakterisieren (z. B. Essiggärung). von schleimigen Substanzen, von Gasen als Schaumbildung, Veränderung der Farbe usw. Aber auch 15 wenn die Nährflüssigkeiten klar blieben. würden Bodensatz- und Hautbildung (Kahmhaut) auf Vegetation der Mikroorganismen hindeuten; namentlich die Hautbildung ist einzelnen Arten eigentümlich. In jedem Falle wird man durch eine mikroskopische Untersuchung die makroskopische Beobachtung unterstützen. geradeso wie bei den Plattenzuchten, 20 um wenigstens Aufschluß über die Arten-Gruppe zu erhalten. welche schädigend auftritt.

Eine Artbestimmung wird hier ebenso selten direkt gelingen als auf der Platte, ja es kommt noch eine Schwierigkeit hinzu, indem in der Kölbchenzucht fast stets Gemische von Organismen vorhanden sein 25 werden, eine „Reinkultur“ also niemals angenommen werden kann, obwohl ja auch die Kolonien auf der Platte keine absolute Sicherheit der Reinheit bieten.

Die **mikroskopische Untersuchung des Absatzes** aus einem Wasser kann sehr wertvolle Aufschlüsse über die Beschaffenheit des Wassers 30 oder über die Herkunft einer Infektion geben. namentlich dann. wenn die örtlichen Verhältnisse dem Analytiker nicht bekannt sind. Das Material für die mikroskopische Untersuchung gewinnt man bei klaren Wässern durch Filtration einer größeren Wassermenge. Die am Filter zurückbleibenden Teilchen sammelt man durch Abspritzen in der Spitze 35 des Filters und wäscht sie nach Durchstoßen des Filters mit wenig Wasser in ein flaches Schälchen. Trübe Wässer läßt man im Kelchglase stehen. in dessen Spitze die festen Teilchen bald absitzen. Die erstere Methode ist besser. wenn im Wasser schwimmende Organismen. z. B. Infusorien u. ä., in Betracht kommen. Auf diese hat man auch 40 bei der Herstellung des Präparates für die mikroskopische Betrachtung Rücksicht zu nehmen. indem man eine der Form und Größe des Deckgläschens angepaßte Zelle aus dünnem Papier verwendet, welche das Zerdrücken zarter Organismen durch das Deckgläschen verhindert. Dasselbe legt man recht zart mit einer Pinzette auf. nachdem man vorher 45 etwaige größere Klümpchen oder Körner zerteilt oder ganz entfernt hat. damit das Deckglas eben liegt. Die Objekte für die mikroskopische Präparation wählt man zum Teile schon mit der Lupe aus und überträgt sie mit einer Pipette auf den Objektträger.

Es kann hier nicht der Ort sein, alle jene Organismen und Körper 50 zu besprechen, welche in Wässern vorkommen können. und es mögen nur jene ganz kurz Erwähnung finden. welche am häufigsten gefunden werden und für die Beurteilung von Belang sind. Eine ausführliche Aufzählung sowie Mittel und Wege zur genaueren Erkennung hat Mez (1) zusammen-

gestellt. Am häufigsten besteht der Absatz aus Wässern verschiedenster Herkunft nur aus feinen und *feinsten Splittern* mineralischer Natur (Sand), deren weitere Bestimmung ohne größere Bedeutung für die Beurteilung ist: Fremdkörper dieser Sorte sind harmloser Art und rühren meist davon her, daß das Wasser vor der Probenahme stark aufgerührt wurde; regelmäßig finden sie sich im Wasser frisch gegrabener Brunnen oder Bohrlöcher als sogenannter *Schwimmsand*. Sie sind sehr leicht an der splitterigen Form, den scharfen Kanten und Spitzen, und der Durchsichtigkeit zu erkennen. Mineralischer Abkunft sind auch trübe krümelige Konkretionen von Ton u. dgl., während Eisenhydroxyd mehr in flockigen Massen von rostbrauner Farbe auftritt. Letzteres findet sich auch geformt wie in Strängen als Einlagerung in die Schleimhüllen gewisser Eisenbakterien, welche ebenfalls Flocken bilden; unter dem Mikroskop wird der Unterschied aber sofort klar. Wegen Entstehung dieser Gebilde sei auf das 7. Kapitel vorliegenden Bandes rückverwiesen und hier nur darauf aufmerksam gemacht, daß die Anwesenheit solcher Eisenbakterien das Wasser für viele technische Zwecke ungeeignet macht.

Nicht weniger häufig sind Körper *organischer* Herkunft, insbesonders pflanzlicher Natur, welche nicht selten große Bedeutung für die Feststellung von Infektionsquellen eines Wassers erlangen. Hierher wären Fasern aller Art zu rechnen, Zellkomplexe pflanzlicher Organe, Einzelgebilde, z. B. Grannenbruchstücke, Epidermiszellen der Spelzen, Stärkekörner, Borstenhaare (als Zeichen einer Verunreinigung durch den Staub von Getreideputzereien, Mühlen) oder Oberhäute von Blättern, Korkzellen (als Verunreinigung offener Waldquellen) usw. Gewisse Stoffe sind auch für die Verunreinigung des Wassers durch städtische Abfallwässer typisch (siehe Mez). *Größere Organismen* sind in den gewöhnlichen, reinen Wässern, welche ja hier doch nur in Betracht zu ziehen sind, ziemlich selten, und ihre Bestimmung ist meist schwierig, wenn auch ihr Wert für die Wasserbeurteilung nicht zu unterschätzen ist. Für die wenigen Fälle aber, in welchen es auf Feststellung dieser Arten ankommt, sind die schon genannten Handbücher zu benützen.

§ 90. Beurteilung eines Wassers für technische Zwecke.

Die Daten, welche durch die Ausführung der im vorhergehenden Paragraphen beschriebenen Untersuchungsverfahren gewonnen worden sind, werden für die Beurteilung eines Wassers ausreichen, soweit es sich um die Beurteilung des Einflusses des biologischen Bestandes auf seine Verwendbarkeit für einen bestimmten technischen Zweck handelt. Durch Verbindung der verschiedenen geschilderten Methoden hat man die Organismen aller Art direkt oder in ihren Wirkungen zur Ansicht gebracht; durch zweckentsprechende Verwendung weiterer Hilfsmittel der Mykologie kann man aber der Frage: „ist dieses Wasser geeignet" auch in jenen Fällen gerecht werden, in welchen die gewöhnliche Methode der Wasseruntersuchung unzulänglich sein sollte. Denn es steht nichts im Wege, auch solche Mikroben im Wasser nachzuweisen, die bei der üblichen im vorhergehenden Paragraphen beschriebenen Arbeitsweise sich der Beobachtung entziehen, z. B. durch Züchtung unter den Bedingungen der Anaerobiose (s. 23. Kap. d. I. Bds.), durch Gärversuche u. a. m.

Die Ergebnisse der einzelnen Versuche sind aber nicht gleichwertig. So erhalten wir durch die *Keimzahlen* der Plattenzuchten kein so deutliches Bild über die Gefährlichkeit eines Wassers als durch die Kölbchenzuchten. Abgesehen davon, ist aber überhaupt der absolute Wert der Keimzahlen noch nicht sicher gestellt, nicht einmal für die hygienische Wasseranalyse, wo verschiedene Autoren *Grenzzahlen* für die Brauchbarkeit als Trinkwasser aufgestellt haben. Bei der technischen Analyse lassen sich solche Grenzzahlen noch viel weniger festsetzen, und es muß da der Erfahrung des einzelnen Beobachters überlassen bleiben, zu entscheiden, wann er ein Wasser nach der Keimzahl als ungeeignet bezeichnen darf. Es liegen hierüber noch zu wenig Beobachtungen vor; aber das Eine ist sicher, daß die Keimzahl, wie sie mit Hilfe der Fleischsaft-Gelatine-Platten ermittelt wird, großen Schwankungen infolge äußerer unabwendbarer Einflüsse ausgesetzt ist, ohne daß ein Zusammenhang mit der technischen Verwendbarkeit beobachtet wurde, wie dies H. Zikes (1) bei Brunnenwässern nachgewiesen hat. Für die technische Wasseranalyse entfällt daher am besten die Fleischsaftgelatine ganz, und für die Plattenzuchten mit Sondernährböden könnte zur Richtschnur genommen werden, daß auf diesen Platten nur sehr wenige Keime (fast Null pro 1 ccm) zur Entwicklung gelangen dürfen. Nur in betreff der *Schimmelpilze* könnte man, wenn sie vereinzelt auftreten, weniger strenge sein, da sie nicht selten eine unvermeidliche Luftinfektion darstellen und gar nicht aus dem Wasser stammen. Man erkennt dies aber ziemlich leicht aus der Art ihrer Verteilung auf den Platten und in den Kölbchen: Kommen sie überall in entsprechender Menge vor, dann werden sie allerdings nicht vernachlässigt werden können und bilden im Gegenteil einen beachtenswerten Fingerzeig für die örtlichen Verhältnisse des Wasservorkommens. Was die Art der Keime (*Artenzahl*) auf den Platten betrifft, so wird ein Wasser, welches mehr Arten von Mikroorganismen, vielleicht aus verschiedenen Formenkreisen, enthält, bei gleicher Keimzahl strenger zu beurteilen sein als das mit geringerer Artenzahl; die Gefahr ist dann eben eine vielseitige. Eine größere Anzahl von Arten spricht ferner für eine reiche Bakterienflora und läßt uns vermuten, daß das vorliegende Wasser günstige Ernährungsverhältnisse für die verschiedensten Arten bietet, was in manchen Fällen bedenklicher sein dürfte, als eine hohe Keimzahl, welche auf wenige oder gar nur eine Art zurückzuführen ist.

Ebenso werden die oben angeführten Begleiterscheinungen in den *Kölbchenzuchten* das Urteil beeinflussen. Wenn einfache Trübung der Nährflüssigkeit eintritt, so läßt dies auf geringere Schädlichkeit schließen, als wenn unangenehme Geruchstoffe, Gärung oder Hautbildung die Trübung begleiten, oder wenn die Zersetzung außerordentlich schnell eintritt. Gerade die Kölbchenzucht hat den großen Vorteil, daß durch diese Erscheinungen die Beurteilung wesentlich leichter ist als bei der Plattenzucht, weil die gemachten Beobachtungen ein Widerspiel der im Betriebe möglichen Schädigungen darstellen.

Die *mikroskopische Untersuchung* wieder wird die besten Dienste leisten zur Aufdeckung der Art und Weise einer Verunreinigung eines bestimmten Wasservorkommens, z. B. eines Reservoires durch Staub, eines Brunnens durch Tagwässer (wenn grüne Algen gefunden wurden) u. dgl. Viele von den Objekten und Organismen, welche uns das Mikroskop in einem Wasser zeigt, können, als einem guten, bezw. schlechten Wasser eigentümlich, für die Beurteilung benutzt werden; doch sei an

dieser Stelle darauf hingewiesen, daß sich die Ansicht, daß grüne, chlorophyllhaltige Algen auf eine gute Qualität des Wassers hindeuten, nicht bewahrheitet hat, jedenfalls nicht, wenn es sich um technische Zwecke handelt.

Bei der Beurteilung wird auch auf die Herkunft des Wassers Bedacht zu nehmen sein, weil zwischen dem biologischen Bestande und dem Vorkommen eines Wassers bestimmte Beziehungen bestehen, Störungen derselben unseren Verdacht erregen, uns auf Unregelmäßigkeiten aufmerksam machen und uns gegebenenfalls Veranlassung bieten können, einen Uebelstand zu beseitigen. Schließlich ist der Ort der Probenahme zu berücksichtigen, da es für die Beurteilung nicht gleich ist, ob dasselbe Wasser z. B. aus dem Brunnen selbst oder aus dem Ausflusse des Brunnenrohres genommen wurde.

Die Beurteilung eines Wassers wird entweder auf Grund der technisch-biologischen Wasseranalyse allein oder in Verbindung mit einer chemischen Analyse erfolgen. Ohne hier auf den Wert der chemischen Analyse eingehen zu wollen, welche ohne Zweifel für gewisse technische Zwecke nicht umgangen werden darf, kann der Grundsatz aufgestellt werden, daß zumindest für die Zwecke der Gärungsgewerbe im weiteren Sinne die biologische Wasseranalyse eine notwendige Ergänzung der chemischen Analyse bildet, in bestimmten Fällen sogar allein maßgebend ist; denn das chemisch tadellose, reine Wasser ist dann, wenn der biologische Bestand ein ungünstiger ist, dennoch untauglich.

Weil die Verwendung des Wassers in den einzelnen Gewerben eine viel zu verschiedenartige ist, um seine Verwendbarkeit von einem einzigen Gesichtspunkte aus zu beurteilen, so kann auf die so wichtige Frage: welches Wasser ist biologisch einwandfrei? kaum näher eingegangen werden, und es könnte nur die allgemeine Antwort erfolgen: dasjenige, welches keine Schädlinge enthält. In diesen Sinne können wir den Satz Ferdinand Fischer's (1): „Ein Wasser ist rein, wenn es für den beabsichtigten Zweck geeignet ist" auch für die Beurteilung vom biologischen Gesichtspunkte aus als vollständig richtig annehmen.

Die einzelnen (technisch-mykologischen) Gewerbe stellen verschiedene Anforderungen an die Beschaffenheit des Betriebswassers, und es sollen hier nur einige wenige Andeutungen darüber gemacht werden; trotz der großen Verschiedenheit wird doch die Gemeinsamkeit in vielem auffallen. Frei von organischen Stoffen (Algen, Pilzen, Pflanzenresten u. dgl.) überhaupt muß das Wasser für Bleichereien und Färbereien sein. Faulende Stoffe aller Art sind für Papierfabriken schädlich; diese bewirken auch in Gerbereien ein unschönes Aussehen des Leders. Für die Stärkefabrikation soll das Wasser frei von Pflanzenresten, Algen- und Pilzfäden, aber auch von gärungserregenden Sproß- und Spaltpilzen sein, namentlich Milchsäure- und Buttersäure-Bakterien sind sehr bedenklich, ebenso Fäulnisbakterien. In der Zuckerfabrikation werden fäulniserregende und schleimbildende Bakterien schädlich. In der Bierbrauerei kommen besonders für die Gärung und Lagerung des Bieres gewisse Mikroorganismen in Betracht, welche Trübungen und Nebengärungen hervorrufen können, vornehmlich Sproßpilze und in geringem Maße Bakterien. Fäulnisbakterien und bestimmte Schimmelpilze werden in Preßhefenfabriken zu beachten sein. In allen Gewerben, welche sich mit der Erzeugung von Lebensmitteln beschäftigen, darf nur solches Wasser verwendet werden, das frei von Organismen ist, welche die Haltbarkeit oder das Ansehen der Nahrungs-

mittel vermindern, auch darf es nicht Stoffe enthalten, welche es als unappetitlich erscheinen lassen.

Die im vorstehenden beschriebene Wasseranalyse, sofern sie sich auch auf die Artbestimmung der bei den verschiedenen Züchtungen und 5 Untersuchungen gefundenen Mikroorganismen erstreckt, erfordert einen ziemlichen Zeitaufwand, und doch wird das Endresultat kaum wesentlich von dem Urteile abweichen, das sich der einigermaßen Erfahrene schon einige Tage nach der Probenahme auf Grund der allgemeinen Beobachtungen gebildet hat. Man steht daher für technische Zwecke meist 10 von der vollständigen Durchführung der biologischen Wasseranalyse ab, wenn es sich nicht um die Wasserbeschaffung bei Neuanlagen oder um ein noch unbekanntes Wasser handelt. Im Betriebe, wo bei bekannten Verhältnissen die biologische Untersuchung (zum Zwecke der Betriebskontrolle) öfter wiederholt wird, kann man sich mit einer einfacheren 15 Durchführung begnügen. Es wird für diesen Fall die Kölbchenzucht allein anzuempfehlen sein, welche bei größter Einfachheit rasch ein sicheres Ergebnis liefert.

§ 91. Die Probenahme.

Eine besondere Beachtung beansprucht die Probenahme, welche von 20 höchster Wichtigkeit für das Resultat ist; man kann sagen, die biologische Wasseruntersuchung beginnt, wie jede technische Analyse, mit der Probenahme.

Als Grundregel kann hingestellt werden, daß die Entnahme so zu erfolgen hat, daß eine Infektion des Wassers durch die Probenahme aus- 25 geschlossen ist. Die Ausführung wird sich vor allem nach der Oertlichkeit richten, nach dem Vorkommen des Wassers, und dem entsprechend sind die nötigen Vorkehrungen zu treffen. Leicht zugängliche,



Fig. 76. Kölbchen zur Entnahme von Wasserproben (nach Flügge). — Auf die Hälfte verkleinert.

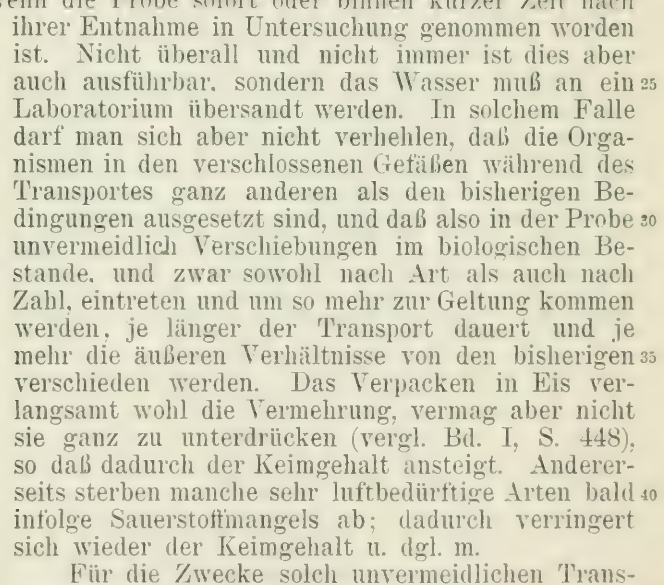
offene Wässer, wie Quellen, Bäche und Flüsse, Teiche und Seen, werden im allgemeinen weniger Sorgfalt erfordern als geschlossene 30 Reservoire und Brunnen, wo die Probenahme oft nicht geringe Schwierigkeiten bereitet, namentlich dann, wenn man der Anforderung gerecht werden will, die Probe möglichst nahe der Ursprungsstelle des Wassers zu nehmen. Verhältnismäßig die wenigste Mühe macht es, die Wasserprobe aus Leitungen oder Brunnenröhren zu nehmen, wo man 35 bloß das ausfließende Wasser steril aufzufangen hat; doch sind vorher die Ausläufe (Leitungshähne, Rohrmündungen) gründlich zu reinigen. Bei stehenden oder fließenden Wässern gilt es auch, die Probe frei von Oberflächenstaub und Schlamm (Absatz) zu erhalten; die Probe soll also aus einer Schichte mittendrin oder doch etwas unter 40 der Oberfläche stammen. Der oft wertvolle Anhaltspunkte liefernde Schlamm muß getrennt entnommen werden.

Auch die Witterung spielt eine Rolle. Die meteorologischen Verhältnisse vor der Probenahme, sowie die Jahreszeit, beeinflussen den Keimgehalt von Tagwässern und seichten Grundwässern wie schon mehr-

fach nachgewiesen wurde, und das Wetter während der Probenahme ist im Freien für den Erfolg sehr maßgebend — bei schlechter, windiger Witterung sollte man die Probenahme ganz unterlassen.

Die Wasserproben müssen naturgemäß stets mit sterilen Gefäßen genommen werden. Es eignen sich hierzu am besten Glasflaschen mit eingeschliffenen Stöpseln von 250—300 ccm Inhalt. Diese werden zuvor, mit Pergamentpapier verbunden und in Filtrierpapier eingewickelt, bei 150° C durch 2 Stunden im Trockenschranke sterilisiert und erst kurz vor der Probenahme aus den Hüllen genommen. Man taucht die geschlossene Flasche in das Wasser, öffnet sie ca. 20 cm unter der Oberfläche und schließt wieder, wenn sie nahezu voll ist, unter Wasser. Bei ausfließenden Wässern leisten sehr gute Dienste sterile Kochkolben (Erlenmeyer-Kolben) mit Wattestopfen oder Bechergläser, welche man mit einer abgeflammten Glasplatte bedeckt. Bechergläser brauchen nicht sterilisiert zu werden, denn wofern sie nur rein gewaschen sind, genügt es, sie sechsmal mit dem zu untersuchenden Wasser auszuspülen; die siebente Probe kann dann ohne Anstand so verwendet werden, als ob sie im sterilen Gefäße aufgefangen worden wäre. Kolben und Bechergläser wird man gebrauchen, wenn das Wasser an Ort und Stelle der Probenahme zur Untersuchung gelangt.

Strengen Anforderungen entspricht das Ergebnis der biologischen Analyse nur dann, wenn die Probe sofort oder binnen kurzer Zeit nach ihrer Entnahme in Untersuchung genommen worden ist. Nicht überall und nicht immer ist dies aber auch ausführbar, sondern das Wasser muß an ein Laboratorium übersandt werden. In solchem Falle darf man sich aber nicht verhehlen, daß die Organismen in den verschlossenen Gefäßen während des Transportes ganz anderen als den bisherigen Bedingungen ausgesetzt sind, und daß also in der Probe unvermeidlich Verschiebungen im biologischen Bestande, und zwar sowohl nach Art als auch nach Zahl, eintreten und um so mehr zur Geltung kommen werden, je länger der Transport dauert und je mehr die äußeren Verhältnisse von den bisherigen verschieden werden. Das Verpacken in Eis verlangsamt wohl die Vermehrung, vermag aber nicht sie ganz zu unterdrücken (vergl. Bd. I, S. 448), so daß dadurch der Keimgehalt ansteigt. Andererseits sterben manche sehr luftbedürftige Arten bald infolge Sauerstoffmangels ab; dadurch verringert sich wieder der Keimgehalt u. dgl. m.



Für die Zwecke solch unvermeidlichen Transportes durch die Post hat Flügge (1) ein zu einem langen dünnen Halse ausgezogenes kugeliges Kölbchen empfohlen, von welchem die *Fig. 76* eine schlankere Abart darstellt. Man kann sich ein solches Probegefäß selbst herstellen, indem man eine mittelstarke Eprouvette in ein enges Röhrchen auszieht, so daß langhalsige Kölbchen von ungefähr 20 ccm Inhalt entstehen. Man macht das Probegefäß durch Verdampfen einer kleinen Menge destillierten Wassers luftleer und schmilzt es, während der letzte Rest ver-

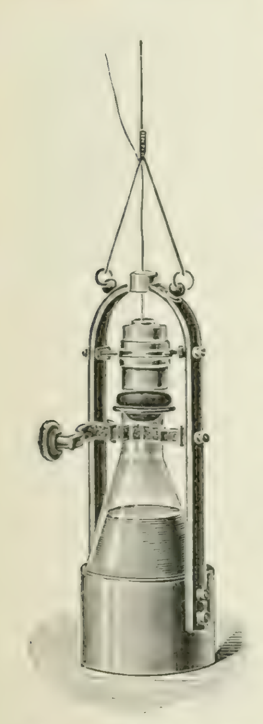


Fig. 77. Apparat zur Entnahme von Wasserproben in der Tiefe nach E. von Esmarch.

dampft, an der Spitze zu. Bricht man unter Wasser diese Spitze ab, so strömt das Wasser ein, worauf man wieder die Spitze zuschmilzt. Die Wasserprobe ist so hermetisch abgeschlossen.

Da es nicht immer möglich ist, sich dem Wasserspiegel zu nähern, 5 manchmal aber nur unter solchen Umständen, daß die Probe direkt nicht ohne Infektionsgefahr genommen werden könnte, weiters um auch Proben aus größeren Tiefen der Gewässer (Flüsse, Teiche, Seen) erhalten zu können, hat man mehrerseits Apparate zur Probenahme zusammengestellt, welche in der Hauptsache bezwecken, das Probegefäß 10 in einer bestimmten beliebigen Tiefe oder doch unter dem Wasserspiegel öffnen und wieder schließen zu können. Als Beispiel eines solchen mag der E. von Esmarch'sche (1) Apparat (*Fig. 77*) dienen. Die weithalsige Flasche ist durch eine, mit einem Bleigewicht in Führung beschwerte Kappe verschlossen, und auch der Boden des Bügels, in welchem der 15 Flaschenhals festgeklemmt wird, ist mit Blei ausgegossen. Diese Flasche wird mittelst einer am Bügel befestigten Schnur in beliebige Tiefen versenkt und dort durch Zug an der zweiten, an der Kappe befestigten Schnur geöffnet. Läßt man dann, nachdem sich die Flasche gefüllt hat, diese Schnur wieder locker, so wird die Flasche durch das Bleigewicht 20 geschlossen und dann emporgezogen.

Literatur

zum Kapitel Die technisch-mykologische Analyse des Wassers.

*__Abba,__ (1) Manuale tecnico di microscopia e bacteriologia, Torino 1902. *__Blücher,__ H., (1) Das Wasser, Leipzig 1900. *__Cohn,__ Ferd., (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1875, Bd. 1, S. 113. *__Dahmen,__ M., (1) Chem.-Ztg., 1892, Bd. 16, S. 861. *__Esmarch,__ E. __von,__ (1) Z. f. Hyg., 1895, Bd. 20. *__Fischer,__ Ferd., (1) Das Wasser, seine Verwendung, etc. 3. Aufl., Berlin 1902. *__Flügge,__ C., (1) Die Mikroorganismen, Leipzig 1896, Bd. 2, S. 592. *__Hager,__ H., und __Mez,__ C., (1) Das Mikroskop u. seine Anwendung, Berlin 1899. *__Koch,__ Rob., (1) Mitt. Kais. Ges.-Amt., 1881, Bd. 1, S. 27. *__Lehmann,__ K. B., und __Neumann,__ R. O., (1) Atlas u. Grundriß d. Bakteriologie und bakt. Diagnostik, München 1899. *__Loeffler,__ (1) Mitt. Kais. Ges.-Amt., 1881, Bd. 1, S. 169. *__Matzuschita,__ Teïsi, (1) Bakteriolog. Diagnostik, Jena 1902. *__Mez,__ C., (1) Mikroskp. Wasseranalyse, Berlin 1898. *__Migula,__ W., (1) Compendium d. bakteriol. Wasseruntersuchung, Wiesbaden 1901. — (2) System d. Bakterien, Jena 1900. *__Miquel,__ P., (1) Manuel pratique d'analyse bactér. des eaux, Paris 1891. *__Reinsch,__ A., (1) Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. 10, S. 415. *__Ruata,__ G. Q., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 11, S. 220. *__Zikes,__ H., (1) Mitt. d. österr. Versuchsstation f. Brauerei u. Mälzerei in Wien, 1902, H. 10, S. 48.

(*Manuskript-Einlauf: 28. Okt. 1905.*)

13. Kapitel.

Trinkwasserfiltration und Wasserfilter.

Von Dr. Adolf Reinsch,

Vorstand des chemischen Untersuchungsamtes der Stadt Altona.

§ 92. Geschichtliches. Grundwasser, Quellwasser, Oberflächenwasser.

In richtiger Erkenntnis der Bedeutung eines reinen und wohlschmeckenden Trinkwassers für den Haushalt des Menschen hatte man bereits im Altertum Mühe und Kosten nicht gescheut, wenn es sich um

die Erlangung dieses so unentbehrlichen Nahrungsstoffes handelte. Legen doch die vorhandenen Reste der altrömischen Wasserleitungen sowie der heute noch in Betrieb befindliche Aquädukt des Kaisers Valens in Konstantinopel hierfür ein beredtes Zeugnis ab.

Aber auch damals stand nicht überall Trinkwasser von genügender Reinheit zur Verfügung, und es fehlt daher seit den ältesten Zeiten nicht an Versuchen, das vorhandene unreine Wasser durch einen Reinigungsprozeß zu läutern. Als Mittel zur Reinigung des Wassers bedienten sich schon die Alten der Filtration. Da man der Ansicht war, daß ein klares Trinkwasser auch gesund und rein sei, begnügte man sich damit, das Wasser von seinen sinnlich wahrnehmbaren Verunreinigungen, den Schwebestoffen, zu befreien, indem man es über Muscheln, künstliche Steine und — wie Plinius und Avicenna berichten — durch Wolle leitete; vergl. Fischer (1). Heute, wo wir dank unserer wissenschaftlichen Hilfsmittel, unserer mikroskopischen und bakteriologischen Untersuchungsmethoden wissen, daß ein in physikalischer Hinsicht völlig einwandfreies Wasser krankheiterregende Lebewesen enthalten und daher in hohem Grade gesundheitsgefährlich wirken kann, sind die Anforderungen, die wir an die Trinkwasserfiltration stellen, naturgemäß größere geworden: wir verlangen von derselben nicht nur ein in physikalischer, sondern auch in gesundheitlicher Hinsicht einwandfreies Produkt.

Als Quelle für die Versorgung des Menschen mit Wasser dient einmal das aus den Tiefen der Erde künstlich gewonnene Wasser (Grundwasser), sodann das freiwillig zu Tage tretende Tiefenwasser (Quellwasser) und schließlich das auf der Erdoberfläche vorhandene Wasser der Flüsse, Landseen und Teiche (Oberflächenwasser).

Das Grundwasser bedarf, wie auf S. 369 näher ausgeführt ist, im allgemeinen nur einer Reinigung von zwar unschädlichen aber unangenehmen, das Wasser unappetitlich machenden Schwebestoffen und Ausscheidungen, vorausgesetzt natürlich, daß es seiner chemischen Beschaffenheit nach überhaupt als Trinkwasser sich eignet. Dasselbe ist mit dem Quellwasser der Fall, wenn es nach seinem Austreten aus dem Erdboden vor Verunreinigungen von der Bodenoberfläche her geschützt wird.

Anders liegen die Verhältnisse beim Oberflächenwasser, welches durchweg Verunreinigungen mannigfachster Art ausgesetzt ist und daher vor seinem Gebrauch als Trinkwasser der sorgfältigsten Reinigung zu unterziehen ist. Diese Reinigung kann bewirkt werden: einmal durch die uns hier allein interessierende Filtration des Wassers, sodann aber auch mit Hilfe von Chemikalien, durch Einwirkung von Ozon usw., über welch letztere Hilfsmittel schon im 21. Kapitel des I. Bandes einige Bemerkungen gemacht worden sind.

Für die Filtration von Oberflächenwasser kommt nun in erster Linie die Menge des zu liefernden Wassers in Betracht. Je nachdem dasselbe zur Versorgung ganzer Ortschaften oder nur zur Versorgung einzelner Haushalte dienen soll, unterscheiden wir zwischen Filter für den Großbetrieb (zentrale Wasserfiltration) und solche für den Klein- oder Hausbetrieb. Bei den Filtern für den Großbetrieb besteht das Filtermaterial überwiegend aus Sand. Hierher gehören nach König (1) die eigentlichen Sandfilter, die Sandplattenfilter und die sogen. Schnellfilter, welche den Uebergang zu den Klein- oder Hausfiltern bilden. In betreff letzterer vergleiche man auch den § 116 des 21. Kapitels des I. Bandes.

§ 93. Die Konstruktion der Sandfilter für den Großbetrieb der Filtration von Oberflächenwasser.

Die künstliche Filtration durch Sand ist lediglich eine Nachahmung der natürlichen Filtration des auf der Erdoberfläche sich niederschlagenden Wassers. Wie dieses beim langsamen Durchsickern der porösen Bodenschichten einen Reinigungsprozeß in verschiedener Hinsicht durchmacht und sich dann auf den undurchlässigen Schichten des Bodens als Grundwasser ansammelt, so versucht man, dieselbe Wirkung durch einen künstlich hergestellten Boden, das Sandfilter, zu erreichen. Die ersten Sandfilter für zentrale Wasserversorgung sind nach Oesten (1) im Jahre 1839 für die Chelsea-Wasserwerke in London gebaut worden, nachdem schon im Jahre 1829 von James Simpson diesbezügliche Versuche angestellt worden waren. In Deutschland wurde die zentrale Sandfiltration zuerst in Berlin im Jahre 1853 und dann im Jahre 1859 in Altona eingeführt, bald darauf in einer ganzen Reihe von Städten, wie Brieg 1864, Stettin, Posen, Braunschweig, Breslau und Lübeck in den Jahren 1865 und 1866; vergl. Pannwitz (1).

Die Konstruktion der verschiedenen, für die zentrale Wasserversorgung benutzten Sandfilter ist im Prinzip dieselbe: Viereckige, im Erdboden eingebettete, offene oder überwölbte Bassins, die bis zu einer

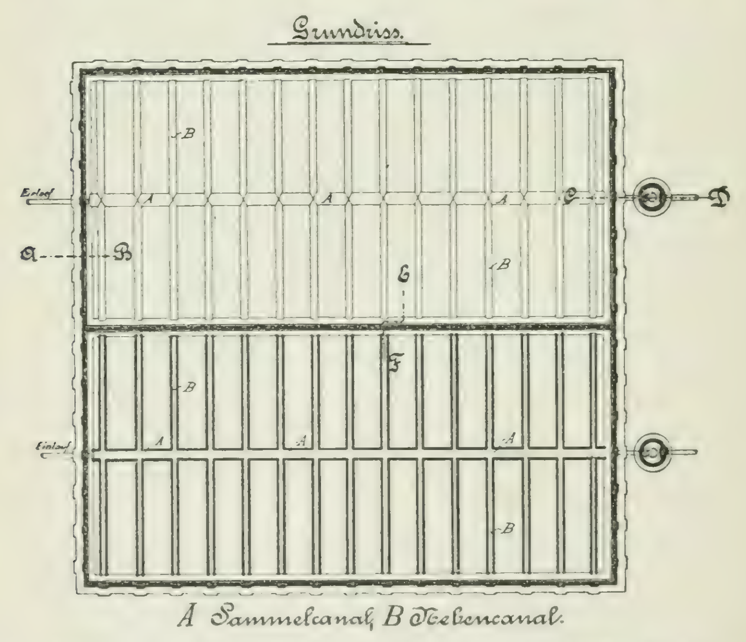


Fig. 78. Grundriß eines Sandfilters des Wasserwerkes zu Altona.
Die senkrechten Schnitte nach den Linien A—B und F—G sind in der Fig. 79, der Schnitt nach C—D in der Fig. 80 dargestellt.

gewissen Höhe mit dem Filterkörper — Sand, Kies und Steine — angefüllt sind. Als Beispiel der Konstruktion eines Sandfilters sei nachfolgend eine kurze Beschreibung der in Altona in Betrieb befindlichen Sandfilter, die sich durch eine vorzügliche Leistung auszeichnen (Pann-

witz), gegeben. Die der Form nach rechteckigen Filter von 800 bis 1200 qm Bodenfläche sind in Backsteinmauerwerk konstruiert und in eine Lage Ton eingebettet. Die totale Tiefe eines Filters beträgt 3.35 Meter. In dem horizontalen Boden, die Mitten der beiden schmalen Außenmauern verbindend, liegt der vertiefte Sammelkanal für das filtrierte Wasser und auf dem Boden senkrecht gegen den Sammelkanal die Nebenkanäle, die mit Stoßfugen gemauert sind, um das Wasser gleichmäßig über die ganze Filterfläche zu sammeln; vergl. *Fig. 78*. Der zwischen den Nebenkanälen verbleibende Raum ist mit Quarz- und Granitsteinen, sogen. Findlingen, ausgelegt und darüber ist das Filtermaterial, Kies und Sand, eingebracht. Von oben nach unten enthält ein Filter:

920 mm gesiebten scharfen Sand (von ein mm Korngröße)
75 „ Kies von Erbsengröße
75 „ „ „ Bohnengröße
80 „ „ „ Haselnußgröße
150 „ „ „ Walnußgröße
220 „ Kieselsteine bis Faustgröße
300 „ Kanäle und große Steine.

Ueber diesem Material befindet sich das zu filtrierende Wasser in einer Schicht von 1230 mm Höhe.

In der Mitte einer der schmalen Außenmauern oberhalb der Sandschicht, welche an dieser Stelle gegen Aufspülen durch eine Schieferplatte geschützt ist, wird dem Filter das durch 24-stündiges Ablagern in großen Bassins vorgeklärte Wasser zugeführt, und an der entgegengesetzten Seite wird dem Sammelkanal das filtrierte Wasser entnommen. Sowohl das Zufluß- als auch das Abflußrohr sind mit Absperrschiebern versehen, mit deren Hilfe die Leistung des Filters auf ein bestimmtes Maß eingestellt werden kann. Die einzelnen Filter sind durch Rohrleitungen mit den Reinwasserreservoiren verbunden. Diese Reservoire — ebenfalls in Backsteinmauerwerk aufgeführt — sind überwölbt und zum Schutze gegen den Wechsel der Lufttemperatur mit einer mehrere Fuß starken Erdschicht bedeckt.' Um die Möglichkeit auszuschließen, daß der Ueberdruck eines Filters zu groß wird, sind die Abflußleitungen kurz nach dem Austreten aus den Filtern unterbrochen und mit sogen. „Aufstandsrohren“ versehen. Diese Aufstandsrohre befinden sich in einem „Filterbrunnen“ und sind so eingerichtet, daß ihr Ueberlauf in der Höhe der Sandoberfläche liegt, so daß der Ueberdruck eines Filters auch bei ganz geöffneten Schiebern höchstens gleich der Höhe der über dem Sande stehenden Wassersäule sein kann. Aus den Figuren 78—80 ist die Konstruktion der Sandfilter sowie die Abgabe von Wasser aus denselben leicht ersichtlich. Die *Fig. 78* auf S. 356 stellt den Grundriß von zwei nebeneinander liegenden Filtern dar. Auf der (vom Beschauer aus) linken Seite der Figur befindet sich der Einlauf des Rohwassers, auf der rechten der Ausfluß des filtrierten Wassers in einen Filterbrunnen; außerdem geht aus der Zeichnung die Lage und Anordnung des Sammelkanals und der Nebenkanäle hervor. Die übrigen zwei Figuren stellen Schnitte durch diese beiden Filter dar. Die *Fig. 79* zeigt in ihrer linken Hälfte im Schnitt 𝔄—𝔅 der Figur 78 die Lagerung des Filtermaterials und den Querschnitt eines Nebenkanals *B* und in ihrer rechten Hälfte im Schnitt 𝔉—𝔈, der durch die Trennungsmauer der beiden nebeneinander liegenden Filter geführt ist, auf dessen linker Seite den Längsschnitt durch einen Nebenkanal *B*, auf der rechten Seite die ununterbrochene Anordnung des Filtermaterials. Die *Fig. 80* zeigt im Schnitt ℭ—𝔇 der Figur 78 den Längsschnitt des Sammelkanals *A*

und veranschaulicht gleichzeitig die Abgabe des filtrierten Wassers aus dem Sammelkanal in das Aufstandsrohr des Filterbrunnens, aus welchem

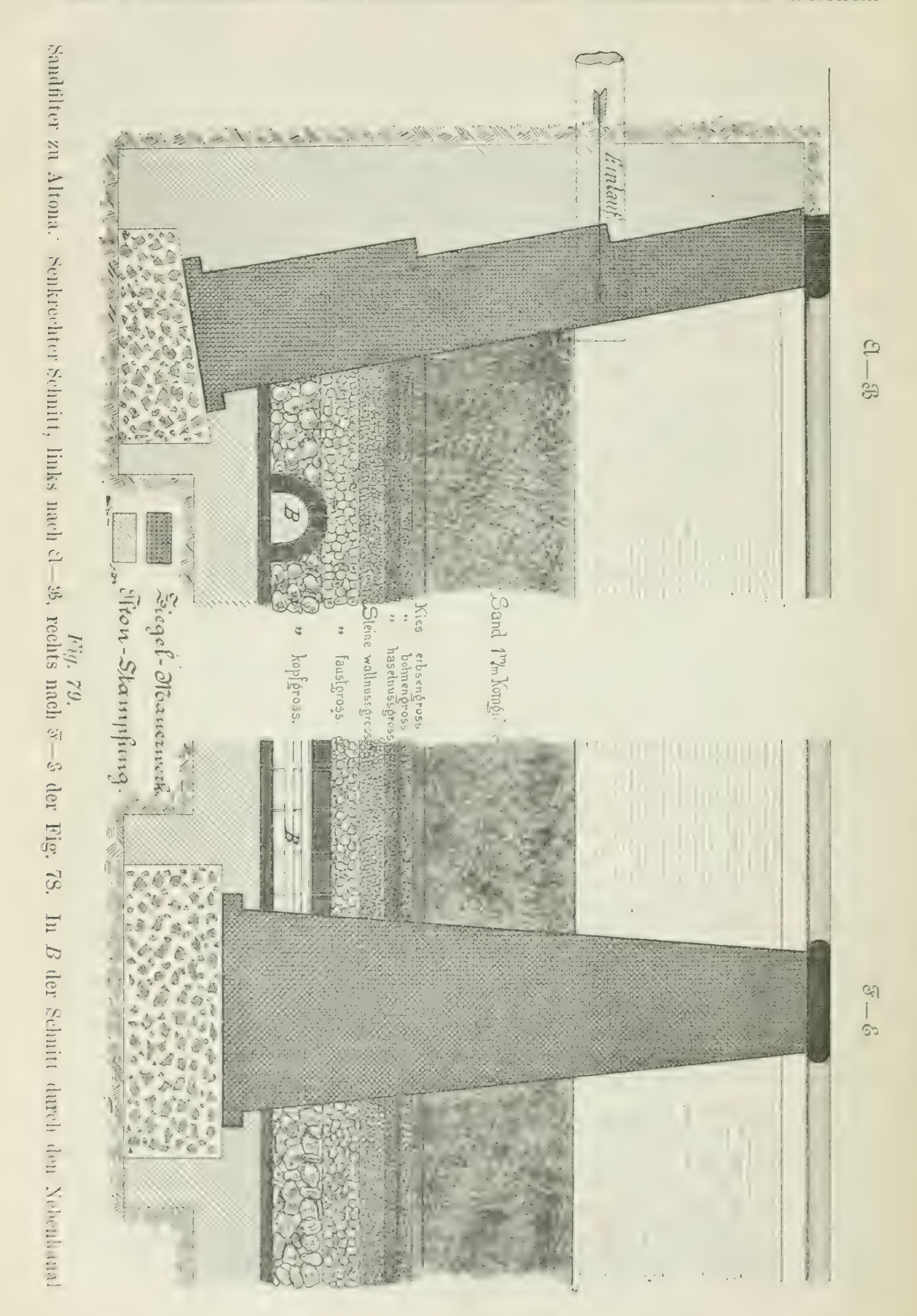


Fig. 79.

Sandfilter zu Altona: Senkrechter Schnitt, links nach A—B, rechts nach F—G der Fig. 78. In *B* der Schnitt durch den Nebenkanal

dasselbe durch das auf der rechten Seite der Figur eingezeichnete Rohr dem Reinwasser-Reservoir zugeführt wird.

Sowohl um das Sandfilter zwecks Reinigung trocken legen zu können als auch um ungenügend filtriertes Wasser von der Abgabe auszuschließen, ist jedes Filter durch eine Rohrleitung mit einer Pumpe verbunden, durch welche dem Filter das bereits filtrierte Wasser entzogen und zur nochmaligen Filtration auf ein anderes Filter übergepumpt werden kann.

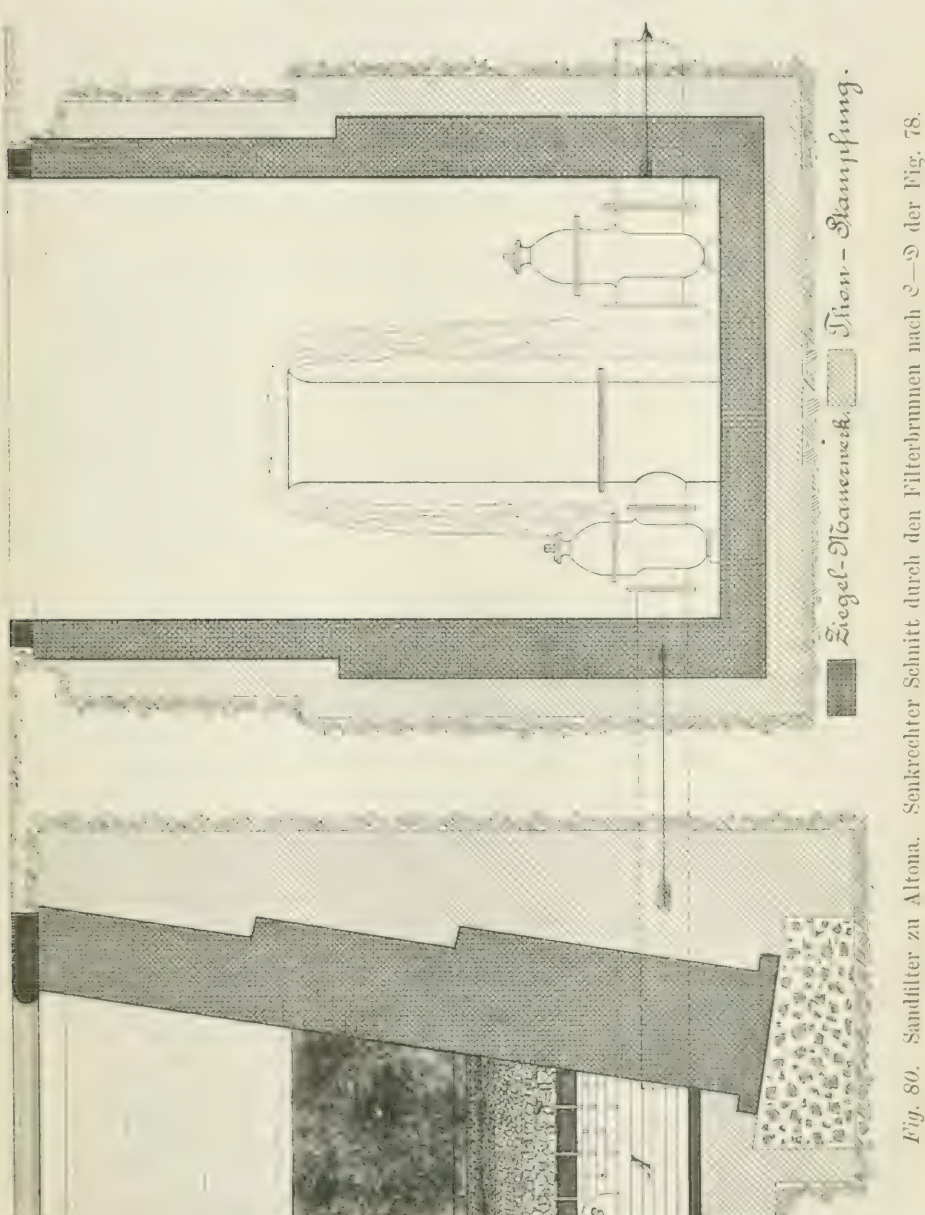


Fig. 80. Sandfilter zu Altona. Senkrechter Schnitt durch den Filterbrunnen nach C—D der Fig. 78.

Besondere Anordnungen bei den Sandfiltern für eine solche doppelte Filtration sind von GÖTZE in Bremen angegeben worden. Von demselben ist auch für den Wasseraustritt aus den Filtern ein „Regler“ konstruiert worden, der selbsttätig den Filterdruck einstellt und gleich-5 zeitig die Größe des Filterdruckes und die Filtriergeschwindigkeit abzulesen gestattet. Aehnliche Reguliervorrichtungen haben zufolge OESTEN (1) die Wasserwerke in Berlin, Hamburg und Pilsen.

Kleinere Verschiedenheiten zeigen die Sandfilter der einzelnen Wasserwerke — abgesehen von ihrer Größe — noch in bezug auf die 10 Stärke des Filtermaterials, die von 280 mm Höhe für die stützende Kiesschicht (Stützschicht) und 300 mm Höhe für die Sandschicht (Schweinfurt) bis 1500 mm Höhe für die Stützschicht (Glückstadt) und 1500 mm Höhe für die Sandschicht (Breslau, Ratibor) schwankt.

§ 94. Die Wirkungsweise der Sandfilter.

15 Nach PIEFKE (1) ist von der Sandfiltration eine Wirkung in dreierlei Hinsicht zu erwarten, nämlich eine mechanische, eine physiologische und eine chemische Wirkung.

Die **mechanische Wirkung** beruht auf der Zurückhaltung der im Wasser suspendierten Stoffe. Es liegt auf der Hand, daß je kleiner die 20 Schwebepartikelchen sind und je reicher das zu filtrierende Wasser an diesen ist, um so unvollkommener auch die mechanische Wirkung des Sandfilters sein wird. Insbesondere werden die namentlich zu Hochwasserzeiten in manchen Flüssen reichlich vorhandenen, außerordentlich kleinen Tonpartikelchen, deren Durchmesser um das Vielfache kleiner ist als der 25 der kleinsten Bakterienarten, ein Sandfilter dann leicht passieren, wenn das Filter, wie der technische Ausdruck lautet, noch „unreif“ ist, d. h. wenn die weiter unten zu erwähnende Filterhaut sich noch nicht gebildet hat und die Verschleimung der Sandschicht noch eine unvollkommene ist. Auch die Mikroorganismen werden ein in diesem Zu-30 stande befindliches Filter leicht durchwandern.

Unter der sogen. **physiologischen Wirkung** des Filters, die wohl besser als biologische bezeichnet wird, versteht man die möglichst vollständige Zurückhaltung der im Wasser vorhandenen Mikroorganismen. Wie aus Versuchen von PIEFKE hervorgeht, wirkt ein frisches, noch 35 nicht gebrauchtes Sandfilter anfänglich wie ein grobes Sieb, da es für den größten Teil der im Wasser befindlichen Schwebestoffe (Tonpartikelchen, Mikroorganismen) durchlässig ist. Nach und nach erhöht sich aber die Wirksamkeit des Filters, was wir uns nach den bisherigen Versuchen und den im Filtrationsbetriebe gemachten Erfahrungen folgendermaßen 40 zu erklären haben:

Beim Anstellen eines Filters bildet sich aus dem über der Sandschicht stehenden und vor Beginn der Filtration mehrere Stunden der Ruhe überlassenen Rohwasser eine dünne, aus den Schwebestoffen des Wassers bestehende Decke, die sogen. Filterhaut. Da die Schwebe-45 stoffe bei dem meist stark verschmutzten Oberflächenwasser zu einem großen Teil aus organischen Substanzen — lebenden und abgestorbenen tierischen und pflanzlichen Organismen — bestehen, stellt die Filterhaut gewissermaßen einen Nährboden für die im Wasser vorhandenen Mikroorganismen dar. Es wird daher in dieser Filterhaut zunächst 50 eine starke Vermehrung der Mikroorganismen stattfinden, von denen

viele infolge ihrer Eigenbewegung die Filterhaut verlassen und in die darunter liegende Sandschicht gelangen werden. Besteht nun die Sandschicht aus reinem oder gar sterilem Sand, so werden infolge des verhältnismäßig großen Raumes zwischen den einzelnen Sandkörnchen die in den Sand gelangenden Bakterien zum größten Teil das Filter passieren, 5 und demzufolge kann das Filtrat erheblich mehr Keime enthalten als das Rohwasser. Infolge einer gewissen Flächenattraktion des Sandes wird jedoch immer eine, wenn zunächst auch noch geringe Anzahl der Mikroben an den einzelnen Sandkörnchen haften bleiben und als „Anhängepunkt" für die nachfolgenden Bakterien dienen (vergl. PIEFKE). 10 So werden nach und nach die einzelnen Sandkörnchen sich ganz mit Bakterien bedecken und hierdurch die Hohlräume zwischen den einzelnen Sandkörnern zum Teil ausgekleidet werden. Es tritt allmählich ein Zustand ein, den man mit Verschleimung des Sandes bezeichnet; das Filter ist reif und erst jetzt imstande, die im Rohwasser vorhan- 15 denen Mikroben fast vollständig zurückzuhalten.

Untersuchen wir den Sand aus einem solchen „reifen" Filter, so fällt schon äußerlich auf, daß er sich schmierig, schlüpfrig anfühlt. Unter dem Mikroskop erkennt man, daß die einzelnen Sandkörnchen von einer schmutzig erscheinenden Hülle umgeben sind. Wird dann solcher Sand 20 mit sterilem Wasser abgespült, so findet man in demselben ungeheure Mengen von Bakterien. So fand PIEFKE an der Oberfläche eines gereinigten Filters 734 Millionen Keime, auf ein Kilogramm Sand berechnet, KÜMMEL (1) an der Oberfläche zweier Filter 4 bezw. fast 12 Millionen Keime in einem Kubikcentimeter Sand. In den tieferen Schichten 25 des Filters nimmt die Keimzahl des Sandes beträchtlich ab. Der Sand, der, an der Oberfläche der Sandschicht entnommen, noch 4 Millionen Keime in einem Kubikcentimeter aufwies, enthielt nach KÜMMEL:

10 mm tiefer	1 038 000	Keime	in	1	ccm
25 „ „	756 000	„	„	1	„
50 „ „	210 000	„	„	1	„
250 „ „	98 500	„	„	1	„
500 „ „	56 700	„	„	1	„

An der Oberfläche der Kiesschicht fanden sich 70 300 Keime in einem Kubikcentimeter, während in der Kiesschicht selbst nur noch 24 800 Keime 30 gefunden wurden. Das Wasser aber, welches durch dieses Sandfilter filtriert worden war, enthielt in der kurz vor dem Anschneiden des Filters entnommenen Probe weniger als 20 Keime in einem Kubikcentimeter. Aus dem oben Gesagten wird die allmähliche Abnahme der Keimzahl in den tieferen Schichten des Sandfilters erklärlich. An der 35 Umkleidung der einzelnen Sandkörnchen mit Mikroorganismen werden außer den lebenden Mikroorganismen auch die abgestorbenen teilnehmen, und es dürfte eine Quellung der Zellwände der letzteren zum Teil wenigstens das sogen. Schleimigwerden des Sandes verursachen.

Die Verwendung von ganz reinem, sterilem Sand zum Aufbau eines 40 Sandfilters erscheint nach dem Vorhergesagten als unvorteilhaft, weil bei diesem eine Verschleimung erst nach erheblich längerer Zeit eintreten würde als bei einem Sande, der von vornherein schon eine gewisse Anzahl von Mikroben beherbergt. So konnte PIEFKE durch Versuche feststellen, daß bei Verwendung von sterilem Sand nach 20-tägigem 45 Gebrauch des Filters das Filtrat immer noch doppelt so viele Keime enthielt als das Rohwasser. Andrerseits darf aber auch kein schmutziger, mit organischen Stoffen beladener Sand verwendet werden, da sonst in

den tieferen Sandschichten dieselben Vorgänge sich abspielen würden wie in der Filterhaut. Das beste Material stellt einmal der schon im Sandfilter gebrauchte und mit reinem Wasser sorgfältig gewaschene Sand, sodann frischer und ebenfalls mit reinem Wasser gewaschener Sand dar. 5 Der erstere enthielt nach einer von KÜMMEL ausgeführten Untersuchung 604000, der letztere 210000 Keime in einem Kubikcentimeter.

Aehnlich nun, wie der Bakteriengehalt des Sandes in einem Sandfilter von der Oberfläche nach der Tiefe abnimmt, ist dies auch mit dem das Filter passierenden Wasser der Fall. Früher nahm man an, daß 10 die Filterhaut die allein wirksame Zone im Filter sei, in der die Mikroorganismen zurückgehalten würden. Tatsächlich kommt ihr auch eine bedeutende Wirkung schon deshalb zu, weil durch die im Wasser vorhandenen suspendierten anorganischen Substanzen ein großer Teil der Mikroben mechanisch zurückgehalten wird. Daß aber auch die unter 15 der Filterhaut liegenden Sandschichten einen wesentlichen Einfluß auf die Filtration haben müssen, ist durch die oben erwähnte Vermehrung der Bakterien in der Filterhaut und ihre Loslösung von derselben erklärlich. REINSCH (1) konnte dies durch Versuche feststellen, indem er gleichzeitig nachwies, daß das Wasser, je tiefer es in die Sandschichten 20 des Filters eindringt, um so ärmer an Keimen wird, um dann in der Kiesschicht des Filters durch Abspülen von den Steinen wieder eine Erhöhung der Keimzahl zu erfahren. Letztere Feststellung ist deshalb von Wert, weil durch sie der Beweis erbracht ist, daß jedenfalls ein Teil der im Filtrate enthaltenen Keime den unteren Schichten des Filters 25 entstammt. Um der sogen. physiologischen (biologischen) Wirkung der Sandfilter durch Zahlen Ausdruck zu geben, seien nachfolgend die Jahresdurchschnitte der Keimzahlen im rohen, nur durch Ablagern geklärten Elbwasser und im Gesamtfiltrat der Altonaer Sandfilter angeführt, wie sie in den Jahresberichten des chemischen Untersuchungsamtes der Stadt 30 Altona für 1897—1904 enthalten sind:

Jahr	Keimzahl des unfiltrierten Elbwassers	Keimzahl des filtrierten Elbwassers	Verminderung der Bakterienzahl durch die Filtration in Prozenten
1897	7942	21,9	99,72
1898	7799	18,1	99,77
1899	8737	23,8	99,73
1900	8440	17,6	99,79
1901	9034	15,1	99,83
1902	11371	12,1	99,89
1903	14665	15,3	99,90
1904	9792	11,8	99,88

Auf 1000 Keime im Rohwasser kommen hiernach ein bis höchstens drei Keime im Filtrat. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß nach Untersuchungen des Verfassers auch bei erheblich höherem Gehalte des Rohwassers an Keimen das Filtrat nicht mehr Keime aufweist, da bei sonst 5 gleichen Bedingungen der Keimgehalt des Rohwassers, wenigstens innerhalb gewisser Grenzen, ohne Einfluß auf den des Filtrates ist, der Filtrationseffekt demnach noch ein erheblich größerer sein kann.

Von größter Wichtigkeit ist nun die Frage, ob durch die Sandfiltration die im Wasser vorhandenen Keime von Krankheitserregern 10 zurückgehalten werden. Aus der soeben besprochenen Wirkungsweise der Sandfilter geht schon ohne weiteres hervor, daß die Möglichkeit

vorhanden ist, daß mit anderen harmlosen Wasserbewohnern auch pathogene Mikroorganismen das Sandfilter passieren. Tatsächlich ist dies auch von Fraenkel und Piefke (1) durch Versuche mit Cholera- und Typhusbakterien nachgewiesen worden. Die Wahrscheinlichkeit des Passierens von pathogenen Bakterien durch das Sandfilter wird aber — bei normalem Verlaufe der Filtration — nur eine äußerst geringe sein. Zunächst werden etwaige, in das Oberflächenwasser gelangte pathogene Bakterien den Wasserbakterien gegenüber immer in der Minderzahl vorhanden sein; dann gelangen sie auf und in dem Sandfilter mit einer so ungeheuren Ueberzahl von Wasserbakterien und zwar unter ungünstigen Lebensbedingungen zusammen, daß sie diesen gegenüber im Kampfe ums Dasein fast ausnahmslos unterliegen werden. Gleichzeitig sollen nach Emmerich (1) auch die im Wasser stets vorkommenden Flagellaten vernichtend auf etwa vorhandene pathogene Mikroorganismen (Typhusbakterien) einwirken. Anders gestalten sich die Verhältnisse aber, sobald im Filtrationsbetriebe Störungen eintreten, die ein Durchspülen von pathogenen Keimen durch das Filter ermöglichen. Aus diesem Grunde sollte unbedingt gefordert werden, daß bei zentraler Sandfiltration jedes einzelne Filter täglich bakteriologisch kontrolliert wird, um derartige Störungen sobald als möglich erkennen und das betreffende Filter von der Wasserversorgung ausschließen zu können.

Die **chemische Wirkung** der Sandfilter ist gegenüber der physiologischen als gering zu bezeichnen und erreicht nicht entfernt die des Bodens. Es fehlt für eine durchgreifende chemische Wirkung im Sandfilter an Sauerstoff, den der poröse Boden infolge der in ihm stattfindenden intermittierenden Filtration in verhältnismäßig großer Menge enthält. Da ein Durchlüften der Sandfilter nur während der kurzen Zeit erfolgen kann, während welcher sie zum Zwecke der Reinigung ganz oder zum Teil trocken stehen, gelangt in dieselben nur der im Wasser gelöste Sauerstoff. Die Wirkung des Sauerstoffs besteht einmal in der Oxydation des Ammoniaks, sodann in einer gewissen Verminderung (Oxydation?) der im Wasser gelösten organischen Substanz; vergl. Bertschinger (1), Proskauer (1), Wolffhügel (1). Auf letztere wirkt nach Fischer (1) der Sauerstoff nicht direkt ein, sondern nur durch Vermittlung der Bakterien, welche die gärungs- und fäulnisfähigen Anteile der organischen Substanz gewissermaßen verzehren, so daß bei hinlänglich ausgedehnter Filtration ein nahezu konstanter Rest von organischer Substanz im Wasser verbleibt, welcher keinen Nährwert für die Bakterien besitzt und daher weder gärungs- noch fäulnisfähig ist. Nach den Ermittlungen Bertschinger's (1) beträgt die durch Sandfiltration bewirkte Abnahme der organischen Substanz, festgestellt beim Wasser des Züricher Sees, bis zu 21 Proz., nach Versuchen des Verfassers beim Elbwasser 25—30 Proz. Die Oxydation des Ammoniaks war nach Bertschinger eine bedeutendere, sie belief sich bis auf 70 Proz.

§ 95. Der Betrieb der Sandfilter.

Bei der Inbetriebsetzung eines Sandfilters wird dasselbe zunächst mit reinem (schon einmal filtriertem) Wasser langsam von unten her bis etwa 20 cm über die Sandschicht gefüllt. Hierauf bringt man das unfiltrierte, in Ablagerungsbassins von den gröbsten Verunreinigungen durch Sedimentation vorgereinigte Wasser (das Rohwasser) auf das

Filter und überläßt letzteres durch 6 bis 12 Stunden oder auch noch länger der Ruhe. Während dieser Zeit haben sich die im Rohwasser befindlichen Schwebestoffe zum Teil auf der Oberfläche des Sandes niedergeschlagen, auf diese Weise die anfangs sehr dünne Filterhaut bildend. Hierauf beginnt man zu filtrieren und zwar im Anfange mit einer möglichst geringen Geschwindigkeit, die allmählich mit dem Dichterwerden der Filterhaut und dem dadurch hervorgerufenen größeren Filterdruck gesteigert wird. Die Größe der Filtrationsgeschwindigkeit pro Stunde ist eine verschiedene und richtet sich nach den örtlichen Verhältnissen, insbesondere nach der Beschaffenheit des Rohwassers. Während Bertschinger bei der Filtration des keimarmen Wassers des Züricher Sees bei Filtrationsgeschwindigkeiten von 1000 mm und darüber noch eine durchaus genügende Reinigung des Wassers in bakteriologischer Hinsicht erzielte, darf bei dem stark verunreinigten Flußwasser, welches namentlich in Norddeutschland zur Filtration benutzt wird, um eine gleich günstige Filtrationswirkung zu erzielen, die Geschwindigkeit nicht wesentlich über 100 mm gesteigert werden. Hier hat die Erfahrung gelehrt, daß beim Einhalten einer gleichmäßigen Geschwindigkeit von ungefähr 60 mm die günstigsten Resultate erzielt werden. Aus dem dem Filter nach und nach zur Verarbeitung zugeführten Rohwasser werden aber immer mehr Schwebestoffe auf der Filteroberfläche niedergeschlagen, die Filterhaut wird immer dichter und der Filtrationsdruck, will man die gleiche Wassermenge filtrieren, ein immer größerer. Da man, um ein Zerreißen und Durchbrechen der Filterschichten zu verhüten, den Druck über eine bestimmte Grenze nicht erhöhen darf, nimmt die quantitative Leistung des Filters mit der Zeit ab. Es kann dies soweit gehen, daß das Filter überhaupt kein Wasser mehr durchläßt, sich, wie der technische Ausdruck lautet, „totgearbeitet" hat. Bis dahin läßt man es natürlich nicht kommen, sondern unterwirft das Filter, sobald seine quantitative Leistung erheblich nachläßt, der Reinigung.

Zwecks Reinigung wird das Wasser aus dem Filter entweder ganz oder zum Teil (z. B. in Altona 30 cm unter der Sandoberfläche) abgelassen, sodann wird die Filterhaut und hierauf die darunter liegende, meist stark verschmutzte Sandschicht in Höhe von 2 oder 3 cm entfernt, worauf das Anstellen (Auffüllen) des Filters wieder in der oben beschriebenen Weise erfolgt. Die Länge der Zeit, welche zwischen zwei Reinigungsperioden liegt, ist eine verschiedene; führt das Wasser z. B. viele Lehmpartikelchen mit sich, so bildet sich sehr schnell eine dichte Filterhaut, und es kann nach Verlauf einer kaum 8-tägigen Filtration eine Reinigung notwendig werden, ebenso, wenn im Sommer auf der Oberfläche der Sandschicht zahlreiche Algen sich ansiedeln und einen dichten, schleimigen Ueberzug bilden. Andrerseits kann, namentlich im Winter, ein Filter mehrere Monate in Betrieb sein, bevor eine Reinigung erforderlich ist. Das stete Fortnehmen von Sand während der Reinigung bewirkt naturgemäß eine Verringerung der Sandschicht, darf daher auch, da der Sand das allein wirksame Prinzip im Filter ist, nur bis zu einer gewissen Grenze geschehen. Die in den Veröffentlichungen des Kaiserlichen Gesundheitsamtes (1) aufgeführten „Grundsätze für die Reinigung von Wasser durch Sandfiltration" verlangen, daß durch die Reinigung des Filters die Stärke der Sandschichthöhe niemals auf weniger als 30 cm verringert werden soll, und empfehlen, diese niedrigste Grenze, wo es der Betrieb irgend gestattet, auf 40 cm zu erhöhen. Daß niedrige Sandschichten einen ungünstigen Einfluß auf die Wirkung der Sandfilter in

bezug auf ihre Fähigkeit, Bakterien zurückzuhalten, ausüben, ist sowohl von Piefke (1) als auch von Reinsch (1) nachgewiesen worden. Ist daher durch wiederholtes Reinigen die Sandschicht bis auf ungefähr 40 cm Höhe verringert, so muß dieselbe wieder bis zur ursprünglichen Stärke ergänzt werden.

Die im Filtrationsbetriebe gemachten Erfahrungen weisen darauf hin, daß ein Sandfilter, wenn es nach jeder Richtung hin wirksam sein soll, sachkundig und mit der größten Sorgfalt, Aufmerksamkeit und Umsicht bedient werden muß. Jeder Fehler in der Behandlung und Bedienung macht sich durch eine Erhöhung der Keimzahl des Filtrats bemerkbar. Trotzdem können Störungen im Betriebe vorkommen, gegen welche man machtlos ist, z. B. das Losreißen großer Stücke der Filterhaut im Sommer infolge reichlichen Algenwachstums. Immer werden aber derartige Störungen durch erhöhte Keimzahlen des Filtrats angezeigt werden, weshalb nochmals auf die Notwendigkeit der schon oben erwähnten täglichen bakteriologischen Kontrolle eines jeden Filters hingewiesen sein mag.

An Stelle der oben beschriebenen Sandfilteranlagen, bei welchen das Wasser in senkrechter Richtung das Filter passiert, ist, wie Grahn (1) mitteilt, von Springfeld ein Projekt aufgestellt worden, nach welchem die natürliche Horizontalfiltration des Flußwassers in eine künstliche verwandelt werden soll. Das Wasser tritt hierbei wagrecht durch eine siebartig durchlochte, künstlich hergestellte Uferwand des Flusses, passiert eine aus Asbest oder Filz hergestellte Filterschicht und durchfließt sodann die mit Sand von wechselnder, vom Ufer ab zunehmender Korngröße gefüllten Filterbecken. Für die Stadt Unna ist eine solche Anlage zur künstlichen Horizontalfiltration von Flußwasser fertiggestellt worden; diese weicht jedoch in manchen wesentlichen Punkten vom Springfeld'schen Projekt ab (unter anderem sind die Filter von Asbest oder Filz fortgelassen) und wird von Grahn vom technischen Standpunkte aus im allgemeinen nicht günstig beurteilt.

§ 96. Das Sandplattenfilter und die Schnellfilter.

An Stelle des losen Sandes dienen bei dem von Fischer und Peters in Worms konstruierten **Sandplattenfilter** als Filtermaterial Sandplatten, die aus einem Gemenge von gewaschenem Flußsand bestimmter Korngröße und Natronkalksilikat geformt und bei hoher Hitze gebrannt sind. Die einzelnen Platten haben eine Oberfläche von 1 qm und eine Dicke von 8—9 cm. Je 2—4 Platten sind derartig miteinander zu einem Filterelement verbunden, daß sie einen 2 cm breiten Hohlraum einschließen. Mehrere Filterelemente sind zu einer Batterie vereinigt und mehrere solcher Batterien dann in einem gemeinsamen Filterbecken aufgestellt. Die Filtration des Wassers erfolgt wagrecht, indem das Rohwasser seitwärts durch die senkrecht gerichteten Platten in die Hohlräume eintritt und die Verunreinigungen an der Oberfläche der Platten sich ablagern. Die Reinigung erfolgt, indem man reines Wasser in umgekehrter Richtung die Sandplatten passieren läßt, wobei dieses die abgelagerten Schmutzteile aus den Poren der Filterplatten verdrängt. Die Schmutzteile sammeln sich am Boden des Filterbeckens an und können von hier leicht entfernt werden. Zu bemerken ist, daß mittelst

einer Dampfrohrleitung heißer Wasserdampf in die Filterelemente geleitet werden kann, um diese gegebenenfalls sterilisieren zu können.

Die Wirkung dieser Sandplattenfilter in bakteriologischer Hinsicht soll zufolge König (1) nach den in Worms gemachten Erfahrungen derjenigen der Sandfilter gleichkommen, die Betriebskosten sollen geringer sein.

Neuerdings hat jedoch, nach einer Mitteilung von Anklam (1), die Herstellung der Fischer-Peters'schen Filterelemente viel zu wünschen übrig gelassen, insofern als ihre Durchlässigkeit nach kurzem Gebrauch erheblich nachließ und sich bald Risse im Filterkörper bildeten. Aus diesem Grunde hat die „Aktiengesellschaft für Großfiltration“ in Worms die Herstellung dieser Filterelemente aufgegeben und durch solche nach dem System Kurka ersetzt. Die nach diesem Systeme hergestellten, innen hohlen Elemente sind rund mit viereckigem Kopf und bestehen aus einem keramisch hergestellten Kunststein, der bei hoher Festigkeit eine große Porosität besitzt. Als Material zu diesem Kunststein dient ein Gemisch von reinem Quarzsand, feinem Glaspulver und einem nicht bekannt gegebenen Bindemittel, das unter 250 at Druck gepreßt und darauf in besonderen Oefen gebrannt wird. Mehrere dieser Filterelemente werden auf einen gemeinsamen Abfluß aufgekittet und die Filterapparate geschlossen oder offen gebaut. Bei letzteren, die hauptsächlich für den Großbetrieb Verwendung finden, sind die Filterelemente in Sand eingebettet, der die gröberen Schwebestoffe des Wassers zurückhält, so daß die Elemente selbst gewissermaßen nur noch der Nachfiltration dienen. Die Wirkungsweise dieser Filter und ihre Reinigung (durch Rückspülung) sind ähnlich denjenigen der älteren Sandplattenfilter.

An Stelle der Sandfilter, deren durchschnittliche Filtrationsgeschwindigkeit 100 mm in der Stunde beträgt, sind nach König (2) Filtrations- bezw. Reinigungsapparate in Gebrauch, die mit einer Geschwindigkeit von 3.8 bis 5.1 m in der Stunde arbeiten und demzufolge eine schnelle Reinigung größerer Wassermengen gestatten. Diese vorwiegend in Amerika in Gebrauch befindlichen **Schnellfilter** dienten ursprünglich den Bedürfnissen der Industrie, wurden dann aber auch zur Wasserversorgung größerer Städte verwendet. Da diese Filter bis 50-mal soviel Wasser liefern als die Sandfilter, nehmen sie auch einen entsprechend kleineren Raum ein und gestatten leicht die Anbringung von Vorrichtungen behufs vorherigen Zusatzes chemischer Fällungsmittel. Gebaut werden die Schnellfilter meist in Form von runden oder zylindrischen Kesseln aus Holz oder Eisen, die sich wegen ihrer verhältnismäßig geringen Größenverhältnisse auch in heizbaren Räumen unterbringen lassen. Als Filtermaterial dient auch bei den Schnellfiltern in der Hauptsache Sand, daneben aber auch Kohle, Koks usw., wie auch die Anwendung von chemischen Fällungsmitteln, insbesondere Alaun und schwefelsaurer Tonerde, vielfach üblich ist. Ueber die Wirksamkeit dieser Filter in biologischer und chemischer Hinsicht liegen nur vereinzelte Mitteilungen vor; im allgemeinen dürften sie die Sandfilter in dieser Beziehung nicht erreichen, wenn es auch gelungen ist, durch einige von ihnen eine Befreiung des Wassers von Bakterienkeimen bis zu 98 Proz. herbeizuführen. Im nachfolgenden sollen die bekannteren von diesen Filtern kurz angeführt werden, indem bezüglich Einzelheiten auf das Werk von König (1) verwiesen sein mag.

Andersen's Revolving Purifier. Das zu reinigende Wasser wird mit metallischem Eisen in innige Berührung gebracht und das aufgenommene Eisen durch Lüftung oder Stehenlassen in Klärbassins

und mittelst Filtrierens durch eine schwache Sandschicht wieder entfernt. Das Verfahren ist in Antwerpen (tägliche Leistung bis 15 900 cbm), Dordrecht, Boulogne sur Seine u. a. eingeführt.

Das Riddel-Filter. Filtrationsmaterial ist Sand, welchen das Wasser unter Druck durchfließt; das Filter ist in Amerika viel in 5 Gebrauch.

Das Howatson-Filter. Bei diesem in Frankreich viel gebrauchten Filter geschieht die Filtration mit oder ohne Zusatz von Chemikalien; die Filtermasse besteht aus zerkleinertem Quarz oder Sand.

Das Warren-Filter. Das Wasser wird zunächst durch schwefel- 10 saure Tonerde geklärt und dann durch eine Sandschicht von 60 cm Höhe ohne Druck mit einer Geschwindigkeit von 8200 mm filtriert.

Das Torrent-Filter wird außer zur Trinkwasserreinigung auch zur Reinigung von Industriewässern gebraucht. Die Filtermasse besteht aus Holzkohle, Sand usw. Zum Reinigen des Filters wird Luft unter 15 hohem Druck von unten in dasselbe geleitet, wodurch die Filtermasse in starke Bewegung gerät, die Schmutzteilchen durch das Waschwasser mit fortgerissen werden und gleichzeitig der Filtermasse Sauerstoff zugeführt wird.

Das Kröhnke-Filter wird hauptsächlich zur Enteisenung des 20 Wassers empfohlen; als Filtermaterial dient Sand.

Das Gerson-Filter. Die Filtermasse besteht aus mit Eisen imprägniertem Bimsstein, Kies, Sand und anderen Stoffen. Nach Versuchen von Stein und Delbrück soll zwar keine Oxydation der organischen Stoffe erfolgen, aber ein klares und keimarmes Wasser erhalten werden. 25

Zu den ältesten Filtern dieser Art gehört das von S. Hyatt (Multifeld-Filter) mit einer Sandschicht von nur 15 cm Höhe und das sogen. „Nationalfilter“, bei welchem Sand und Koks als Filtermasse und Alaun als Fällungsmittel dienten.

§ 97. Filter für den Kleinbetrieb der Filtration von Oberflächen- 30 wasser (Klein- und Hausfilter).

Das Material, welches bei diesen Filtern zur Verwendung gelangt, besteht nicht aus Sand sondern aus den verschiedenartigsten anderen Stoffen, wie Kohle, Kieselgur, Eisenschwamm, Ziegelmehl, Asbest, Ton, Porzellan, Bimsstein, Papier und Zellulose; auch Wolle, Fries, Filz usw. 35 finden Anwendung. Von den bekannteren dieser Filter seien nach König (2) die folgenden erwähnt.

Das Porzellanfilter von Pasteur-Chamberland besteht aus einem Zylindergefäße, welches durch Brennen von Porzellanerde hergestellt wird, und durch welches das Wasser unter Druck von außen 40 nach innen filtriert. Aehnlich sind die Porzellanfilter von Haldenwanger in Charlottenburg, von J. Stavemann in Berlin, das Pukallsche Filter, das Tonrohrfilter von Möller-Hesse u. a. Auch das Kieselgurfilter von Nordmeyer-Berkefeld, aus gebrannter Infusorienerde bestehend, gleicht den Porzellanfiltern, wie auch, wenigstens in 45 bezug auf das Filtermaterial, das Breyer'sche Ziegelmehlfilter hierher gehört.

Eine Reihe anderer Filter haben als Filtermaterial Asbest, der mit Wasser zu einem Brei vermahlen wird, aus welchem in verschiedenster Weise Filterplatten geformt werden. Es sind dies die Asbestfilter von 50

C. Piefke in Berlin, J. Trenkler in Wien, von Sellenscheidt in Berlin, das Wasserfilter „Puritas“ von Sonnenschein, das Armee-Asbestfilter von O. Kuhn in Wien, das Patentfilter von H. Jensen u. Co. in Hamburg und das Mikromembranfilter von Fr. Breyer in Wien. Das Filter von Arnold und Schirner besteht zufolge Götze (1) aus tellerartigen Platten mit feinem Metallgewebe, auf das ein Gemenge von Asbest und Zellulose aufgeschwemmt wird.

Das Eisenschwammfilter von Bischoff besteht aus erbsengroßen Stücken von Eisenoxyd und Koks, durch welche das Wasser filtriert wird. Aehnlich diesem Filter sind Spencer's Magnetic-Carbide und das Polarite-Filter, bei welchen angeblich das verwendete Eisenoxyd ganz oder zum Teil magnetisches Eisenoxyd sein soll.

Papier oder Baumwolle (Zellulose) als Filtermasse haben die Filter von L. A. Enzinger in Worms, von Möller und Holberg in Grabow, von H. Koch in Halle a. S.

Bei den Kohlenfiltern findet die Kohle (Holz- oder Tierkohle) entweder in nuß- oder erbsengroßen Stücken Anwendung oder als Filterblock in zusammengepreßter Form. Derartige Filter sind von Bühring, Chearing, Möller, Maigneu, Rogge u. A. konstruiert worden.

Ueber die Wirkung dieser Filter in bakteriologischer Hinsicht sind zahlreiche Untersuchungen angestellt worden, von denen in erster Linie die von Plagge (1) und Hesse (1), sodann die von Gruber (1), Beyerinck (1), Kübler (1), Kirchner (1), Bitter (1), Weyl, Sander (1), Renk (1) und Wichmann (1 u. 2) zu erwähnen sind. Diese Untersuchungen haben ergeben, daß die erste Anforderung, die man an diese Filter zu stellen hat, nämlich ein keimfreies Filtrat zu liefern, von einigen dieser Filter zu Anfang und für eine gewisse Zeit erfüllt wird, daß es aber ein Filter, welches dauernd ein keimfreies Filtrat liefert, nicht gibt. Mit der Zeit findet bei allen diesen Filtern ein Durchwachsen von Bakterienkeimen, denen die im Filter allmählich sich anhäufende Schlickschicht als Nährboden dient, statt. Außerdem können bisweilen vorhandene leichte, äußerlich nicht erkennbare Risse und Sprünge im Filterkörper ein Durchspülen von Mikroorganismen ermöglichen. Es ist daher bei Gebrauch dieser Filter eine häufige, möglichst tägliche Reinigung derselben, sowie eine öftere bakteriologische Kontrolle ihrer Wirksamkeit notwendig. Daß diese Filter auf die im Wasser gelöste organische Substanz nicht einwirken können, ihre Wirksamkeit sich vielmehr lediglich auf die Zurückhaltung der Schwebestoffe einschließlich der Bakterienkeime erstrecken kann, liegt auf der Hand. Am besten wirken von diesen Filtern die aus feinkörnigem Material, wie Porzellan, Kieselgur, Ziegelmehl, Ton und Asbest hergestellten.

§ 98. Filtration von Grundwasser.

Infolge der vorzüglichen Filtrationskraft des Bodens ist das aus gewisser Tiefe gewonnene Grundwasser keimfrei. Nur dort, wo das Grundwasser bis dicht an die Bodenoberfläche tritt oder wo Spalten und Risse im Boden oder im Gestein sich finden, kann eine Verunreinigung des Grundwassers von der Bodenoberfläche her stattfinden. Da man ein solchergestalt verunreinigtes Grundwasser für die Wasserversorgung, wenigstens im Großbetriebe, von vornherein nicht benutzen wird, kann es sich bei der Reinigung des Grundwassers im allgemeinen

nur um die Entfernung von Stoffen handeln, die dem Wasser ein unappetitliches Aussehen bezw. einen unangenehmen Geschmack oder Geruch verleihen. Diese Substanzen sind einmal das im Grundwasser häufig vorkommende Eisen (kohlensaures und humussaures Eisenoxydul), sodann zuweilen vorkommende geringe Mengen von Schwefelwasserstoff. Der Umstand, daß solches Wasser beim Stehen an der Luft seinen Geruch bald verliert und die größte Menge der vorhandenen Eisensalze infolge des Zutrittes von Luftsauerstoff als unlösliches Eisenoxydhydrat ausgefällt wird, hat von vornherein den Weg gezeigt, auf welchem eine Reinigung des Wassers zu erzielen ist. Die am meisten gebräuchlichen Verfahren beruhen daher auch darauf, durch Ermöglichung eines schnellen Gasaustausches, das sogen. „Lüften" des Wassers, die Ausfällung der Eisensalze herbeizuführen und letztere durch Filtration zu entfernen.

Im Großbetrieb ist die Enteisenung des Wassers durch „Lüften" zuerst von SALBACH (1) eingeführt und später durch OESTEN und PIEFKE weiter ausgebildet worden. Nach dem Verfahren von OESTEN (1) wird eine energische Durchlüftung des Wassers dadurch bewirkt, daß es in einen feinen Regen aufgelöst wird, welcher 2 m hoch auf den Wasserspiegel des Filterbehälters herunterfällt. Das ausgeschiedene Eisen bleibt beim Durchgang des Wassers durch das Filter, welches aus einer 15—20 cm hohen Kiesschicht von Graupenkorngröße besteht, zurück. PIEFKE wendet statt des freien Regenfalls die Rieselung des Wassers über faustgroße Koksstücke, die sich in eisernen oder gemauerten Gehäusen (Kokstürmen) befinden, an und filtriert das Wasser hierauf durch ein Feinsandfilter. Nach beiden Methoden gelingt es, das Eisen auch bei stark eisenhaltigen Wässern fast vollständig (bis auf 0.1—0.2 mg pro Liter) zu entfernen. Vergl. dazu S. 210.

Ein wichtiger Faktor für die vollständige Enteisenung des Wassers ist nach DUNBAR und KRYCK (1) außer der reichlichen Sauerstoffzufuhr der Umstand, daß durch einen gleichmäßigen Ueberzug der Sandkörner mit Eisenschlamm Sauerstoff in erhöhtem Maße zurückgehalten wird, weshalb durch ein Filter, dessen Sandkörnchen genügend mit Eisenschlamm überzogen sind, die Enteisenung durch unterbrochene Filtration allein schon zu erreichen ist.

Einen anderen Weg zur Enteisenung des Wassers schlagen LINDE und HESSE ein. Diese filtrieren das eisenhaltige Wasser, ohne es vorher zu lüften, durch Holzspäne, die mit Zinnoxyd durchtränkt sind. Ueber die Rolle, welche das Zinnoxyd hierbei spielt, ist man noch nicht im klaren; nach KÖNIG (2) bewirkt es vielleicht als Kontaktsubstanz die Uebertragung des im Wasser vorhandenen Sauerstoffs auf das Eisenoxydul, vielleicht wirkt es auch lediglich durch Flächenattraktion.

BRUHNS (1) verwendet zur Enteisenung des Wassers Filter aus organischen Stoffen, wie Holzfaser, Papierstoffe, Gewebeabfälle, Kork u. dgl., welche mit fein verteiltem Mangansuperoxyd oder an dessen Stelle mit anderen Oxyden bezw. Oxydhydraten des Mangans in feiner Verteilung durchsetzt sind.

HELM empfiehlt zur Enteisenung des Wassers die Filtration des Wassers, ohne besondere Lüftung, durch eine Schicht von 4—20 mm großen Stücken von Brauneisenstein und Raseneisenstein. Hierbei soll nach HELM's Ansicht das Eisenhydroxyd die im Wasser gelösten Eisenoxydulsalze unter eigener Reduktion in Eisenoxyduloxyd verwandeln. Nach Untersuchungen von SCHMIDT und BUNTE (1) beruht jedoch die

enteisenende Wirkung des Brauneisensteins nicht auf einer Abspaltung von Sauerstoff aus dem Eisenhydroxyd sondern lediglich auf der Abgabe des auf dem Brauneisenstein verdichteten Luftsauerstoffs an das Wasser, wo derselbe dann zur Oxydation des Eisens verbraucht wird. 5 Diese Untersuchungen haben im allgemeinen über die wissenschaftlich bisher noch wenig erforschten Vorgänge bei der Enteisenung des Wassers interessante Aufschlüsse gebracht, auf welche jedoch, weil nicht mykologischer Natur, hier nicht näher eingegangen werden kann.

Literatur

zum Kapitel Trinkwasserfiltration und Wasserfilter.

*Anklam, G., (1) Der Gesundheits-Ingenieur, 1903, S. 221. *Bertschinger, Alfr., (1) Untersuchungen ü. d. Wirkung d Sandfilter d. städt. Wasserwerks in Zürich. Zürich 1889. *Beyerinck, M. W., (1) Hyg. Rundsch. 1891, Bd. 1, S. 209. *Bitter, H., (1) Z. f. Hyg., 1891, Bd. 10, S. 145. *Bruhns, G., (1) Chem.-Ztg., 1903, S. 1092. *Dunbar und Kryck, (1) Journ. f. Gasbeleuchtg. u. Wasserversorgung, 1898, S. 41 u. f. *Emmerich, R., (1) Zeitschr. f. d. Untersuchg. d. Nahrungs- u. Genußmittel, 1904, Bd. 8, S. 77. *Fischer, F., (1) Das Wasser. Berlin 1902, S. 404 u. f. *Fraenkel, Carl, und Piefke, C., (1) Z. f. Hyg., 1890, Bd. 8. *Götze, E., (1) Artikel „Filtration" in Encyklopädie d. Hygiene. Leipzig 1905, Bd. 1, S. 297. *Grahn, E., (1) Journal f. Gasbeleuchtg. u. Wasserversorgung, 1904, Jahrg. 47, S. 476. *Gruber, Max, (1) Centralbl. f. Bakt., 1893, Bd. 14, S. 488. *Hesse, W., (1) Z. f. Hyg., 1886, Bd. 1, S. 178. *Kirchner, M., (1) Z. f. Hyg., 1893, Bd. 14, S. 299. *König, J., (1) Die Verunreinigung der Gewässer. Berlin 1899, Bd. 1, S. 110 u. f. — (2) Chemie der menschl. Nahrungs- u. Genußmittel. Berlin 1904, Bd. 2, S. 1390 u. f. *Kübler, (1) Z. f. Hyg., 1890, Bd. 8, S. 48. *Kümmel, Werner, (1) Journ. f. Gasbeleuchtg. u. Wasserversorgung, 1893, Bd. 36, S. 161. *Oesten, G., (1) Artikel „Wasserversorgung" in Weyls Handbuch der Hygiene, Jena 1896, Bd. 1, S. 415 u. f. *Pannwitz, Gotthold (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1898, Bd. 14, S. 153. *Piefke, C., (1) Die Prinzipien der Reinwassergewinnung vermittelst Filtration. Berlin 1887. *Plagge, (1) Ueber Wasserfiltration. Tagebl. der 59. Versammlung deutscher Naturforscher u. Aerzte 1886. *Proskauer, B., (1) Z. f. Hyg., 1890, Bd. 9, S. 103. *Reinsch, A., (1) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 16, S. 881. *Renk, Fr., (1) Vierteljahrsschrift ü. d. Fortschritte auf d. Gebiete d. Chemie d. Nahrungs- u. Genußmittel, 1886, S. 139. *Salbach, (1) Bericht ü. d. Erfahrungen bei Wasserwerken mit Grundwasserversorgung. Dresden 1893. *Sander, (1) Hyg. Rundsch., 1895, Bd. 5, S. 445. *Schmidt, A., und Bunte, K., (1) Journal f. Gasbeleuchtg. u. Wasserversorgung, 1903, S. 481. *Veröffentlichungen des Kais. Ges.-Amtes, 1899, S. 108. *Wichmann, H., (1) Mitt. d. Oesterr. Versuchsstation f. Brauerei u. Mälzerei in Wien, 1892, Heft 5, S. 84. — (2) Allgem. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabr., Wien, 1904, Bd. 32, S. 334. *Wolffhügel, (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1886, S. 1.

(Manuskript-Einlauf: 4. Nov. 1905.)

14. Kapitel.

Die biologische Selbstreinigung der natürlichen Gewässer.

Von Prof. Dr. R. Kolkwitz,

Privatdocent der Botanik und wissenschaftl. Mitglied der Kgl. Preuß. Versuchs- und Prüfungsanstalt für Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung zu Berlin.

§ 99. Einleitung und Geschichtliches.

10 Man versteht unter der Selbstreinigung der Gewässer vor allem die Fähigkeit derselben, die ihnen aus Städten, Dörfern, Fabriken usw. zugeführten Abwässer in verhältnismäßig kurzer Zeit so zu verarbeiten, daß die ursprüngliche Reinheit solcher Gewässer nicht dauernd merklich

beeinträchtigt wird. Die Tatsache, daß Schmutzstoffe, welche ins Wasser gelangen, hier mit der Zeit eine Zersetzung und teilweise Beseitigung erfahren, ist seit langem bekannt, aber die nähere Einsicht in die verschiedenen Faktoren, welche diesen Prozeß ermöglichen, ist erst verhältnismäßig neuen Datums. Die Selbstreinigung der Gewässer hat bis 5 zu einem gewissen Grade Aehnlichkeit mit dem Ausfaulen und dem Gären von Aufgüssen (Infusionen) und anderen zersetzungsfähigen Flüssigkeiten. Diese schon seit langem bekannten Erscheinungen sind im Gegensatz zur Selbstreinigung der Oberflächengewässer vorwiegend durch Beobachtung im kleinen, durch Laboratoriumsversuche studiert worden, 10 wodurch natürlich die wissenschaftliche Erforschung der hierauf bezüglichen Probleme schneller fortschreiten konnte als das Studium der Selbstreinigung der Flüsse, welches ausgedehnte Beobachtungen im Freien erfordert. Die Erscheinung, der man gegenüberstand, war sehr kompliziert, und die Untersuchungsmethoden zwecks Feststellung der Aus- 15 giebigkeit der stattfindenden Selbstreinigung boten zunächst erhebliche Schwierigkeiten. Maßgebend für die Beurteilung des Reinheitsgrades der hier in Betracht kommenden Oberflächenwässer war zur Zeit, als die bezüglichen planmäßigen Untersuchungen begannen, also gegen 1870, die chemische Analyse. Ganz naturgemäß lag also die Unter- 20 suchung der vorliegenden Frage zunächst in den Händen der Chemiker, deren erste Aufgabe es war, festzustellen, ob überhaupt chemische Selbstreinigung stattfindet und wie groß sie bejahendenfalls ist. Eine ganz ähnliche geschichtliche Entwicklung, wie wir sie hier kennen lernen werden, nahm bekanntlich auch das Studium der Nitrifikation, wie aus 25 § 32 des 5. Kapitels dieses Bandes ersehen werden kann.

Die ersten ausführlichen Untersuchungen über den Verbleib der in die Flüsse geleiteten Schmutzstoffe wurden in England angestellt. Diese Untersuchungen wurden einer im Jahre 1868 ernannten königlichen Kommission, genannt Royal Commission on Rivers Pollution, übertragen, 30 besonders ihrem Hauptmitgliede Edward Frankland. Die hierbei erzielten Resultate wurden zu einem ausführlichen Bericht (Report) zusammengestellt und zunächst 1870 den beiden Häusern des Parlaments überreicht, doch bis 1874 noch fortgesetzt. „Immer gelangen wir, heißt es im ersten Bericht, zu demselben unabweisbaren Schluß, daß die Oxy- 35 dation der im Kanalwasser vorhandenen organischen Substanzen mit äußerster Langsamkeit vor sich geht, auch wenn das Kanalwasser mit einer großen Menge nicht verunreinigten Wassers vermischt wird, und daß es unmöglich ist, anzugeben, einen wie weiten Weg solches Wasser zurücklegen muß, bis die aus dem Kanalinhalt herrührenden Stoffe voll- 40 kommen oxydiert sind. Das aber kann mit Sicherheit aus den oben aufgeführten Resultaten abgeleitet werden, daß es keinen Fluß in Großbritannien gibt, der lang genug wäre, um die Vernichtung des Kanalinhaltes durch Oxydation herbeizuführen." Es handelte sich also um rein chemische Untersuchungen und die Selbstreinigung wurde im 45 wesentlichen nur als eine mechanische Klärung durch Sedimentation gedacht, allenfalls unterstützt durch eine direkte Oxydation durch den freien Sauerstoff. Die letztgenannte Ansicht erwies sich aber später in der Hauptsache als irrig.

Diese Untersuchungen der englischen Kommission wurden, wie sich 50 bald zeigte, an Flüssen angestellt, welche für solche Untersuchungen nicht recht geeignet waren, da wegen zu starker Verunreinigung und auch wegen Giftstoffe lebende Organismen in genügender Menge und

in charakteristischem Zusammenleben sich nicht entwickeln konnten. Man darf auch nicht vergessen, daß im Jahre 1868 eine methodische Bakteriologie, die zur Beurteilung hätte herangezogen werden können, noch nicht vorhanden war. Eine Bestätigung für die Tatsache dieser übermäßigen Belastung der englischen Flüsse mit Schmutz- und Giftstoffen findet sich bei GERSON (1), der von den besonders damals fühlbaren nachteiligen Effluvien der chemischen Industrie auf die englischen Flüsse spricht. Weiter wird berichtet, daß z. B. der Themse in London massenhaft übelriechende Gase entströmten und ihr Wasser so stark getrübt war, daß weiße Gegenstände, die man versenkte, selbst bei hellem Sonnenschein dicht unterhalb der Wasseroberfläche für das Auge verschwanden. TIEMANN und GÄRTNER (1) betonen mit Recht, daß bei den großen Strömen des Festlandes die Verhältnisse anders lägen als bei den kurzen englischen Flüssen (deren Länge im Durchschnitt nur ca. 170 km beträgt) und daß überhaupt in der Frage der Beurteilung von Strömen nicht verallgemeinert werden dürfe.

Wenn auch die Mikrobienkunde zur Zeit der Kommissionsuntersuchungen nicht in Anwendung gebracht werden konnte, so ist immerhin wesentlich zu erwähnen, daß auch damals schon die Verwendung des Mikroskopes zur Untersuchung des Wassers nicht neu war; doch hat die Kommission sich dieses Hilfsmittels nicht bedient. Den Beweis für eine bereits im Jahre 1850 vorgenommene mikroskopische Untersuchung von Flußwasser liefert die Arbeit von ARTHUR HILL HASSAL (1). Die ersten englischen Untersuchungen über Bakterien im Wasser stammen nach den Angaben PASTEUR's von dem Arzte BURDON-SANDERSON aus dem Jahre 1871, also aus einer Zeit, als die ersten Untersuchungen der ROYAL COMMISSION schon beendet waren.

Als Beispiel eines Festlandflusses, bei dem damals weitgehende Selbstreinigung wirklich beobachtet wurde, sei die Seine genannt, welche die Abwässer von Paris aufnimmt. Bis zum Ende der Insel St. Denis, mehrere Kilometer unterhalb der Stadt, war im Jahre 1874 das Wasser im rechten Arm der Seine weder zur Ernährung von Menschen und Tieren, noch zum Kochen von Nahrungsmitteln, noch zu irgend einem anderen Hausgebrauch verwendbar; es war sogar ohne vorgängige Abklärung und Reinigung zum Besprengen der öffentlichen Straßen ungeeignet. Sah man an dieser Stelle das Bild einer argen Verschmutzung, so erschien 70 km unterhalb von Paris dem Beobachter die Sachlage wesentlich geändert: Die Seine zeigte hier wieder normales Aussehen und normalen Pflanzenwuchs. Man glaubte auch hier, daß diese offenbar auch chemische Veränderung des Wassers wesentlich dem Luftsauerstoff zuzuschreiben sei.

GÉRARDIN (1) betonte, nachdem seit dem Jahre 1868 von einer Kommission Voruntersuchungen angestellt worden waren, den wesentlichen Nutzen der Berieselung für die Reinigung der Abwässer und bemerkte dabei, daß durch ein solches Verfahren die arg verschmutzte Seine die normale grüne Farbe ihres Wassers und ihre reichliche Vegetation wiedergewinnen werde. Man vergleiche darüber Assainissement de la Seine (1), ferner DUCLAUX (1 u. 2).

Fast um die gleiche Zeit, 1877, finden wir PASTEUR, nachdem er über zehn Jahre früher die Abhängigkeit mancher Oxydations- und Reduktionserscheinungen von Mikroorganismen erkannt hatte, damit beschäftigt, den Bakteriengehalt im Seinewasser festzustellen, wobei sich naturgemäß ein bedeutender Reichtum an diesen Mikrobien ergab.

Pasteur konstatierte dabei auch die bemerkenswerte Tatsache, daß aus der Tiefe der Erde kommende Quellwässer keimfrei sind.

Bezüglich der in Amerika angestellten Flußuntersuchungen sei auf die Berichte des Gesundheitsamtes in Massachusetts (1) verwiesen.

In Deutschland waren bereits vor dem Jahre 1877 über die Selbstreinigung der Gewässer wichtige, anfänglich wenig beachtete Arbeiten durch Alexander Müller (1) veröffentlicht worden (vgl. S. 135). Dieser Forscher begann seine hierauf bezüglichen Beobachtungen mit Studien über die Gärung des Harns Ende der fünfziger und Anfang der sechziger Jahre des vorigen Jahrhunderts. Intensiver gestalteten sich diese, zunächst von rein praktischen Gesichtspunkten ausgehenden Beobachtungen im Jahre 1869, wo seitens der Stadt Berlin genanntem Forscher die spezielle Aufgabe gestellt worden war, nachzuweisen, wie die Abwässer der für Berlin geplanten Schwemmkanalisation am besten beseitigt oder durch Berieselung ausgenutzt werden könnten. Bereits Anfang 1870 hatte Müller die Ueberzeugung, daß Mikrobien einen wesentlichen Anteil an der Verarbeitung bzw. langsamen Verbrennung der in der Spüljauche enthaltenen organischen Substanz hätten, nicht zum wenigsten an der Nitrifikation. Diese Ueberzeugung hatte Müller früher gewonnen, als hierüber die französischen Beobachtungen in Deutschland bekannt wurden. „Bei der Fäulnis der Spüljauche," heißt es im Jahre 1873 bei ihm (1), „entstehen zuerst Spirillen, dann Schimmelpilze, zuletzt chlorophyllführender *Protococcus* (nach heutiger Terminologie *Chlorella*). Die letzten Stadien der sogen. Selbstreinigung verlaufen immer langsamer; Ammoniak, Kohlensäure, bezüglich Schwefelwasserstoff usw. werden ausgehaucht, Sauerstoff wird aus der Atmosphäre aufgenommen; schließlich hat sich das schmutzige stinkende Rinnsteinwasser in ein sehr weiches, farb- und geruchloses Wasser mit wechselndem, doch verhältnismäßig geringem Salpetergehalt verwandelt." Im Jahre 1877 schrieb derselbe Verfasser (2), daß die für die Unterbringung der Spüljauche sehr wichtige Selbstreinigung der Flüsse weniger durch chemisch-molekulare Prozesse als durch Tiere und Pflanzen bedingt werde.

Diese wichtigen Arbeiten Alexander Müller's blieben, wie gesagt, verhältnismäßig unbeachtet und vielfach auch unbekannt. Erst im Jahre 1885 lenkte Emich (1) durch seine auf ähnliche Fragen gerichteten Studien die allgemeine Aufmerksamkeit auf die Arbeiten Müller's. Auf Grund eigener Untersuchungen fand er die Angaben Müller's bestätigt und kam weiter zu der Ueberzeugung, daß zwischen den Faktoren, welche die Mineralisierungsvorgänge im Boden bedingen, und den im Wasser sich abspielenden Reinigungsprozessen große Aehnlichkeit bestehe. Auch Hulwa (1) wandte den Organismen des Wassers bei Gelegenheit seiner Untersuchungen über die Selbstreinigung der Oder seine Aufmerksamkeit zu; vgl. auch König (1).

Ein großer Umschwung auf dem Gebiete der Wasseruntersuchung trat im Jahre 1882 mit Einführung der Nährgelatine als Kulturboden in die bakteriologische Methodik durch Robert Koch (1 u. 2) ein; Näheres darüber findet sich im 22. Kap. des I., sowie im 12. Kap. dieses Bandes. Damit war der chemischen Methode eine biologische hinzugefügt.

Bald brach sich auch die Erkenntnis Bahn, besonders durch die Arbeiten Ferd. Cohn's in Breslau, daß außer den Bakterien noch andere Wasserpilze, wie *Beggiatoa*, *Sphaerotilus* und *Leptomitus*, am Selbstreinigungsprozeß beteiligt seien. Bei den oben genannten Untersuchungen Hulwa's über die Selbstreinigung der Oder finden wir denn auch eine größere

Zahl von in verschmutztem Wasser vorkommenden Organismen berücksichtigt. Vergl. auch MEZ (1).

Im Jahre 1891 suchte PETTENKOFER (1), gestützt auf die Ansichten Münchener Botaniker, der Lehre Anerkennung zu verschaffen, daß auch die Algen an der Selbstreinigung der Flüsse wesentlich beteiligt seien: vgl. BOKORNY (1), SCHENCK (1), und LOEW und BOKORNY (1). Dem Einwande, daß sie durch Absterben wieder zu einer erneuten Quelle der Verunreinigung würden, begegnete er damit, daß er betonte, die Algen hätten selbstverständlich kein ewiges Leben, aber die absterbenden dienten den lebenden wieder zum Aufbau, gleichwie das faulende Laub in einem Walde kein Misthaufen werde, sondern wieder für die Bäume Nahrung abgebe. Dieser Satz verdient deshalb besonderes Interesse, weil er die Frage der Schlammverzehrung streift.

Mit der Berücksichtigung des *Schlammes* und der Beziehung der Organismen untereinander bei der Beurteilung eines Flusses tritt die Frage nach der Selbstreinigung in ein anderes, reiferes Stadium der Untersuchung. Bezüglich der Beteiligung höherer Pflanzen an der Selbstreinigung vgl. GROSSE-BOHLE (1). Ungefähr um diese Zeit war zum besseren Verständnis der komplizierten Lebensvorgänge und Beziehungen der Organismen zueinander der Begriff des *Mikrokosmos* geschaffen worden, der besagt, daß in aus Pflanzen und Tieren bestehenden Lebensgemeinschaften diese durch ihre entgegengesetzten Produkte und Bedürfnisse sich selbst genügen können; vgl. FOREL (1).

Die Literatur der Jahre 1890—1900 enthält, wie die späteren Auseinandersetzungen zeigen werden, zahlreiche weitere Arbeiten über unsere Frage. Zurzeit ist ein gründlicheres Studium der biologischen Selbstreinigung viel leichter möglich als früher, vor allem wegen der vollkommeneren Methoden. Es hat sich immer mehr die Erkenntnis Bahn gebrochen, daß die Frage ziemlich verwickelt ist und daß jeder Fluß oder See seine Individualität besitzt und jeder seine mehr oder minder charakteristischen Lebensgemeinschaften birgt; man spricht heute den einzelnen Flüssen nicht mehr generell dieselbe Selbstreinigungskraft zu. Zur Beurteilung der Intensität der Selbstreinigung untersucht man nicht bloß das Wasser selbst, sondern auch die Gesamtheit der in ihm, im Schlamm und an den Ufern lebenden Organismen, also den *Zustand* der Gewässer; vgl. SCHORLER (1) und KOLKWITZ und MARSSON (1).

Es kann dem Zweck dieses Handbuches nicht entsprechen, wenn die Gesamtheit aller Organismen der Gewässer eine eingehende Berücksichtigung findet, sondern es muß die ganze Frage hier allein nach ihrer wichtigsten Seite, der mykologischen, behandelt werden. Die Bakterien der Gewässer sind an vielen Orten in praktischer sowohl wie wissenschaftlicher Beziehung eingehend studiert worden. Es ist nicht möglich, alle diese Arbeiten in der Literaturzusammenstellung namhaft zu machen; es können demgemäß vorwiegend nur diejenigen berücksichtigt werden, welche vor allem auf die durch die Bakterien erzielten biologischen Effekte hinweisen. Die Mykologie der Sprudel, Thermen und Schwefelquellen ist nicht berücksichtigt worden, ebensowenig die Mykologie der Fischkrankheiten.

§ 100. Die Natur der Vorfluter.

Die Pilze, von denen im vorliegenden Kapitel in erster Linie gesprochen wird, sind im allgemeinen Saprophyten, also Organismen,

welche zu ihrer Ernährung mehr oder weniger reichlicher Mengen organischer Substanzen bedürfen. Wir werden demnach, um die Mykologie in erster Linie berücksichtigen zu können, vor allem diejenigen Faktoren eines Vorfluters näher zu behandeln haben, welche die Größe des Gehalts an organischen, fäulnisfähigen Stoffen sowie deren Verteilung im Wasser beeinflussen. Unter *Vorfluter* versteht man das jeweilig aufnehmende Gewässer. So z. B. ist jeder Hauptfluß Vorfluter für seine Nebenflüsse.

Angenommen, ein mit solchen Stoffen beladenes Abwasser (vgl. die Analyse in § 105 des 15. Kap.) von annähernd konstanter Zusammensetzung liege vor, so wollen wir fragen, wie sich diese „düngende Nährlösung" in den verschiedenen Vorflutern verhält, welcher Grad der Selbstreinigung also entsprechend der Verschiedenheit der Vorfluter unter den so wechselvollen Bedingungen zu erwarten ist.

Ist der *Vorfluter klein und fast stagnierend* und ist die Menge des zufließenden, fäulnisfähigen Abwassers im Vergleich zur Wasserführung des Vorfluters ziemlich beträchtlich, so werden leicht Fäulnisprozesse eintreten können, besonders im Schlamm. Die Zersetzung wird sich dann nicht in der Form einer langsamen Oxydation durch Organismen abspielen, sondern als Fäulnis nach Art eines mit Schmutzstoffen erheblich überladenen Gewässers. Weitgehender Mangel, sogar Schwinden des Sauerstoffs und Entwicklung übler Gerüche werden in diesem Falle die notwendige Folge der sich abspielenden intensiven biologischen Prozesse sein. Wir können in einem solchen Falle, trotz der lebhaften Zersetzungsvorgänge, nicht von einer erheblichen Selbstreinigung sprechen (wiewohl das Wasser eine Million Keime und mehr pro ccm enthalten kann), da das Maß der zu bewältigenden Arbeit, die Menge der immer wieder neu zugeführten Stoffe zu groß ist, um einen merklichen Reinigungseffekt hervorzurufen.

Aehnliches würde von kleinen *Teichen* gelten, die zudem ganz besonders weitgehende *Verschlammung* zeigen können.

Das andere Extrem zu diesen stagnierenden Vorflutern bilden schnellströmende *Gebirgsbäche*. Selbst unter der Voraussetzung, daß sie klein sind, führen sie wegen der lebhaften Strömung oft ziemlich reichliche Mengen von Wasser und sind dadurch für fäulnisfähige Stoffe viel aufnahmsfähiger. Die Temperatur des Wassers ist in solchen Fällen meist niedrig, das Wasser also im Gegensatz zu unserem ersten Beispiel als kühl zu bezeichnen und darum viel weniger zur Fäulnis neigend. Der Schlamm, er möge noch so zersetzungsfähig sein, wird ständig mit fortgerissen, das Bett also andauernd mechanisch von Sinkstoffen gereinigt. Diese Sinkstoffe können mithin ihren sonst wegen der Fäulnisprozesse schädigenden Einfluß auf das über das Bachbett dahineilende Wasser nicht ausüben — zwei sehr wesentliche Faktoren, welche dazu angetan sind, die im ersten Falle geschilderten, überwiegend reduzierenden Prozesse nicht aufkommen zu lassen; hier wird viel reichlicher Gelegenheit zu Oxydationen gegeben sein, es ist unter Umständen sogar Gelegenheit zur Entwicklung festsitzender chlorophyllgrüner Organismen, wie Fadenalgen und Wassermoose, vorhanden. Inwieweit diese letztgenannten die vorhandenen Schmutzstoffe durch Oberflächenanziehung absorbieren und dann — vielleicht im Verein mit tierischen Gästen in ihrem Fadengewirr — verarbeiten, ist eine Frage, welche eingehenderen Studiums wert ist und voraussichtlich positive Ergebnisse bezüglich der Reinigung des Wassers liefern wird.

Was vorstehend für Bäche gesagt ist, gilt ähnlich auch für *Flüsse*.

nur daß diese schon größere Mengen von Verunreinigungen zu verarbeiten vermögen. Beim schnell fließenden Bach konnten wir die Frage unerörtert lassen, wo schließlich der Schlamm bleibt, den er fortführt. Er wurde eben von dem Flusse aufgenommen, in den der Bach fließt, 5 vorausgesetzt, daß Schleusen, Staue, Mühlenteiche u. dgl. im Bache fehlen. Beim Fluß dagegen müssen wir, falls er langsam fließt, fragen, ob er der zugeführten Schlammmassen Herr werden kann, oder ob in ihm förmliche Schlammbänke entstehen. Diese Frage ist übrigens auch für das breite Mündungsgebiet schnell fließender Ströme berechtigt. So kommen 10 die Sedimente des mit Wucht strömenden Rheins in Holland zum Absitzen, ganz ähnlich wie der gleiche Prozeß bei der Deltabildung verläuft. Es darf aber nicht vergessen werden, daß in diesen Fällen die organischen Sinkstoffe auf ihrer Wanderung zur Flußmündung bereits mehr oder weniger weit verändert, d. h. in humusartige Verbindungen 15 umgewandelt oder mineralisiert sind. Bei größeren langsam fließenden Flüssen mit Stau bedingenden Schleusen u. dgl. werden wir im allgemeinen, wie bei stagnierenden Gewässern, einen ziemlichen Reichtum an Organismen erwarten dürfen, vorwiegend durch relativ hohen Gehalt an ernährenden organischen Stoffen und durch höhere Temperatur er-20 möglicht.

Der Gehalt des Wassers an organischen Substanzen bleibt in solchen Flüssen auch nicht unbeeinflußt von dem oft im Bett abgelagerten Schlamm, der Zersetzungsprodukte ständig in die über ihm befindlichen Wassermassen diffundieren läßt, durch Gärblasen auch Schlammfladen 25 an die Oberfläche treibt.

Die ungefähre Zusammensetzung von Flußwasser kann aus der nachfolgenden Tabelle ersehen werden.

Analysen von Fluß-, See-, Trink- und Regenwasser.
(Die Zahlen bedeuten, soweit nichts anderes angegeben ist, Milligramme pro Liter.)

	Nicht verunreinigter, langsam fließ. Fluß	Großer, reiner See	Trinkwasser	Regenwasser aus reiner Luft
Suspendierte Stoffe	3—10	1—3	meist 0	0,2—3
Abdampfrückstand	ca. 200	150—200	bis 300	4—6
Permanganatverbrauch	20—30	2—20	ca. 6	0—2
Gesamtstickstoff	1—3	bis 2	meist 0	2—20
Phosphorsäure, Kali und Eisen je	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren
Gelöster Sauerstoff	4—8 ccm	6—9 ccm	meist 6 ccm	6—10 ccm
Keime pro ccm	400—4000	1[1])—150	3—100	1—10

[1]) Vgl. Forel (3).

Diese Analyse ergibt, daß Flußwasser eine nur geringe Konzentration besitzt (ca. 0,02 Proz.), auch der Gehalt an organischen Nährstoffen, 30 welche für das Wachstum der Saprophyten wesentlich sind, sehr gering ist, wenigstens im Vergleich zu den sonst in der Mykologie üblichen Nährlösungen. Phosphor- und Kalisalze, welche als anorganische Nährsubstanzen eine besonders wichtige Rolle spielen, finden sich nur in Spuren und müssen deshalb von den Flußwasserorganismen, als den 35 Stellen des Verbrauchs, ebenso angezogen werden, wie Jodsalze von den Meerespflanzen. Kalk und Kochsalz pflegen dagegen in verhältnismäßig

größerer Menge vorzukommen. Gelöster Sauerstoff ist in reinen Flüssen in ausreichender Menge vorhanden, ungefähr in solcher Quantität, wie sie durch Schütteln des Wassers mit Luft erreicht wird. Wegen der Assimilationstätigkeit der Algen kann natürlich der Sauerstoffgehalt mit der Belichtung ziemlich erheblich schwanken. 5

Werden in einen Fluß städtische, fäulnisfähige Abwässer (vgl. die Analyse im § 105 des 15. Kap.) eingeleitet, so genügt nach den Analysen eine durch Fäulnisstoffe bedingte Erhöhung der Konzentration des Flußwassers um einige Hundertstel Prozent, um einen Fluß aufs ärgste zu schädigen. Bezüglich der Aenderung im Keimgehalt vgl. § 102. 10

Die Zeit, welche frei schwebenden Organismen zur Betätigung ihrer Funktionen in den verschiedenen Flüssen zur Verfügung steht, ist sehr verschieden je nach der Länge und der Strömungsgeschwindigkeit der Flüsse. So braucht beispielsweise das Wasser der Weser bei mittlerem Wasserstand zum Zurücklegen des Weges von der Quelle bis zur Mündung 15 ca. 8, das der Oder ca. 14 Tage.

Nähere Einzelheiten, besonders über hydrologische Verhältnisse, findet man bei Jurisch (1), wo Donau, Rhein, Weser, Elbe, Oder, Weichsel u. a. m. nebst ihren Nebenflüssen behandelt sind. Wegen Angaben über deutsche, österreichische, schweizer, französische, englische und ameri- 20 kanische Flüsse vgl. Weyl (1).

Seen können als Vorfluter für fäulnisfähige Abflüsse geeignet sein, nur muß die Einleitung derselben so geschehen, daß am Ufer keine faulenden Stoffe zur Ablagerung gelangen; vgl. Pettenkofer und Hofer (1). Die Beschaffenheit reinen Seewassers ergibt sich aus der Tabelle auf 25 S. 376; vgl. auch Tiemann-Gärtner (1). Dasselbe ist im allgemeinen noch reiner als gutes Flußwasser und keimärmer.

Trinkwasser hat ähnliche Zusammensetzung, ist jedoch frei oder fast frei von stickstoffhaltigen Substanzen und suspendierten Stoffen.

Mit dem zum Vergleich herangezogenen Regenwasser (aus reiner 30 Luft!) endlich kommen wir zu dem reinsten Wasser, das es in der freien Natur überhaupt gibt; vgl. König (1) und F. Fischer (2). Wir können also aus den Tabellen des 14. und des 15. Kapitels alle Stadien der Reinheit des Wassers vom Abwasser bis zum fast destillierten Wasser verfolgen und sehen, wie die Zahl der auf gewöhnlicher Nähr- 35 gelatine wachsenden Keime mehr und mehr abnimmt.

Zum Schluß dieser Auseinandersetzungen soll noch eines wichtigen mechanisch reinigenden Faktors gedacht werden, der für die Reinhaltung der Flüsse oft von erheblicher Bedeutung ist und das Baggern vielfach unterstützt, nämlich die Spülung der Flußbetten bei Hochflut. Sie 40 ist es, welche durch die erhöhte Wasserführung und Stromgeschwindigkeit enorme Mengen von aufgewirbelten Massen fortführt, die Altwässer ausspült und damit Flußbett und Ufer in kurzer Zeit so gründlich säubert, wie es innerhalb einer ähnlichen Zeitperiode Organismen nicht ausführen könnten. 45

§ 101. Die Natur der verunreinigenden Zuflüsse und die Art der Mischung.

Von der Natur der besonders die Flüsse verunreinigenden Abwässer kann man sich leicht eine ungefähre Vorstellung machen, wenn man bedenkt, wie verschiedenartige Abfallstoffe aus Städten und technischen 50

Betrieben in die öffentlichen Gewässer gelangen. Als Beispiel wollen wir an dieser Stelle nur nennen: Wirtschaftswässer, Urin und Kot, mitgeschwemmte Massen von Papier, Stofffasern, Kaffeesatz, Säuren, Alkalien, Salze, Farbstoffe u. a. m.

Für unsere speziell auf die Mykologie der Gewässer bezüglichen Betrachtungen genügt der Hinweis, daß die oben näher gekennzeichneten Abfallprodukte in vier Gruppen getrennt werden können:

1. In für Pilze und andere Organismen ernährende gelöste oder in feinster Suspension befindliche Stoffe,

2. in für Organismen im allgemeinen ziemlich indifferente gelöste Stoffe,

3. in für lebende Organismen mehr oder weniger stark als Gifte wirkende gelöste Stoffe,

4. in schneller oder langsamer zu Boden sinkende und dort sich umsetzende ungelöste Substanzen.

Die *Menge der Abwässer* aus einer Stadt berechnet man nach der Einwohnerzahl; sie beträgt, um eine ungefähre Zahl zu liefern, in Deutschland 100 Liter pro Tag und Kopf bei mittlerer Konzentration. Es gibt aber Fabriken, z. B. Zuckerfabriken, welche pro Tag mehr Wasser liefern als eine kleinere Stadt. Es ergießt sich dann ein förmlicher Sturzbach aus solchen Fabriken in den Vorfluter.

Zur ersten der obigen vier Gruppen, welche für uns zunächst die wichtigste ist, wären zu rechnen: Eiweißstoffe in feinster Suspension und deren nächste Derivate, wie Albumosen und Peptone, aus Speiseresten, Blutbestandteile von Schlachthausabwässern, leimartige Substanzen, Kohlenhydrate aus süßen Speisen, Zuckerrüben und Kartoffeln, Fette von Speiseresten usw. Gleichzeitig damit gelangen natürlich auch die für die Ernährung der Organismen nötigen anorganischen Nährsalze, wie Phosphate, Kaliverbindungen usw., in die Gewässer. Eine Analyse solcher Schmutzwässer kann aus § 105 des 15. Kapitels ersehen werden. Sind die organischen Stoffe schon mehr oder weniger zersetzt, oder waren sie etwa künstlichen Reinigungsprozessen unterworfen, so findet man naturgemäß auch ihre Spaltungs- und Oxydationsprodukte, wie Phenol, Indol, Skatol, Amide, Amidosäuren, Buttersäure, Milchsäure, Essigsäure, Alkohol usw. Danach wird man ohne weiteres erkennen, daß solche Abwässer speziell für Pilze oft eine vorzügliche Nährlösung abgeben.

Zur zweiten Gruppe rechnen die Laugen aus Salzbergwerken, bestehend aus Kochsalz, Chlorcalcium und Chlormagnesium, welche, wenn sie in nicht zu großer Menge eingeleitet werden, auf die Mehrzahl der Organismen weder einen nennenswert schädigenden noch nennenswert fördernden Einfluß ausüben; Fische leiden bisweilen unter größeren Mengen solcher Abwässer merklich. Die wirtschaftlichen Schäden, welche die so erhöhte Härte des Wassers mit sich bringt, können bedeutend sein. Viele Farbstoffe, wenn sie nicht zu reichlich der Vorflut zufließen, gehören auch zu dieser zweiten Gruppe.

Was die dritte Gruppe, die Gifte betrifft, so ist von diesen in erster Linie der Aetzkalk zu nennen, welcher seiner stark alkalischen Reaktion wegen die meisten Lebewesen schädigt oder tötet. *Aetzkalk* wird bekanntlich von vielen Fabriken als Klärmittel für die Abwässer benutzt und gelangt mit diesen als unbeabsichtigtes Desinfektionsmittel in die Gewässer. Diese desinfizierende Wirkung des Kalkes dauert aber nur kurze Zeit, da er bald durch die Kohlensäure des Wassers neutralisiert und in unlöslichen kohlensauren Kalk verwandelt wird. Wo *Säuren*

in eine Vorflut gelangen, etwa größere Mengen von freier Schwefelsäure bei nicht selten vorkommenden Fabrikunfällen, treten naturgemäß Absterbeerscheinungen an Organismen auf, welche durch die ätzende Wirkung der Säure bedingt sind. Die so hervorgerufenen Schädigungen lassen sich flußabwärts so weit verfolgen, bis das Säurebindungsvermögen des meist alkalisch reagierenden Flußwassers zur Neutralisation führt.

Der vierten Gruppe, zu welcher die Sinkstoffe rechnen, gehören zum Teil ähnliche Stoffe wie der ersten Gruppe an, nur gesellen sich vor allem die relativ schweren Muskelfasern aus Kot, Kaffeegrund und Cellulose von abgestorbenen pflanzlichen Organismen, Holzfasern aus Cellulosefabriken, Stroh- und Pferdedungpartikel dazu. Viele dieser Sinkstoffe unterliegen, wie allgemein bekannt, am Boden von Flüssen und Seen der Methan- und Wasserstoffgärung (vgl. das 9. Kap.) und sind dementsprechend für die Mykologie der Wasserpilze von hervorragendem Interesse. Andere Sinkstoffe, welche häufig mit Abwässern in den Schlamm gelangen, sind für uns im allgemeinen von geringerem Interesse. Von diesen seien beiläufig erwähnt: Ruß, Kohlenbrocken, Koks, zerbröckelte Mauersteine und einiges mehr.

Für die Selbstreinigung verschmutzter Gewässer ist die Art der Mischung der zufließenden Abwässer mit dem Vorfluter oft von großer Bedeutung. Es ist eine wohl jedermann bekannte Erscheinung, daß oftmals ein getrübter Nebenfluß, welcher in einen größeren Fluß einmündet, sich zunächst an dem zugewendeten Ufer des Hauptflusses eine Zeitlang hinzieht, ohne sich mit dem Wasser des Vorfluters zu mischen. Ebenso ist es naturgemäß häufig mit Abwässern. Entsprechend der Ausbreitung derartig eingeleiteter Abwässer werden sich auch die auf Kosten der gelösten organischen Stoffe lebenden Saprobien zunächst nur an einem Ufer entwickeln.

Münden dagegen Abwässer in einen kaskadenartig über Gesteinsblöcke schäumend dahineilenden Gebirgsbach, so wird die Mischung der Abwässer mit der Vorflut eine sehr innige sein, auch wenn dieser kaskadenartige Lauf nur eine verhältnismäßig kurze Strecke ausmacht.

Zwischen diesen beiden Extremen wird derjenige Fall die Mitte halten, wo die Wässer in den Stromstrich durch Röhren eingeleitet werden, welche unter Umständen fast bis in die Mitte eines Flusses am Grunde desselben entlang geführt sind. Hier wird bei langsamer Strömung und regelmäßig gestaltetem Bett das Wasser zunächst in der Tiefe bleiben, sich aber bald — je nach der Intensität der durch Temperaturdifferenzen bedingten Vertikalströmungen — mit dem übrigen Wasser mischen.

In stehenden Gewässern endlich würde sich das eingeleitete Wasser ungefähr in kugel- oder halbkugelförmiger Begrenzung ausbreiten, wobei oft nur eine langsame Mischung durch Diffusion eintritt. Dabei ist vorausgesetzt, daß die zufließenden Wässer nicht vermöge eines größeren spezifischen Gewichtes oder niedriger Temperatur sogleich zu Boden sinken.

Die Erscheinung des Untersinkens — infolge höheren spezifischen Gewichtes gegenüber dem aufnehmenden Gewässer — ist auch bei nicht künstlichen Zuflüssen beobachtet worden. So berichtet FOREL (2), daß je nach dem Verhältnis der Dichte des Rhonewassers zum Wasser des Genfer Sees — bedingt durch Temperaturdifferenzen und winzige Aufschwemmungen — sich der Zufluß auf der Oberfläche ausbreitet oder in die mittleren und tiefen Schichten hinabsteigt, sich auch horizontal aus-

breiten kann, wenn er die Zone gleicher Dichte gefunden hat. Weiteres über die Art der Mischung beim Zusammenfließen zweier Gewässer sehe man bei JURISCH (1) sowie bei WEIGELT (1) ein.

Die Mannigfaltigkeit in der Art des Zufließens und Mischens bedingt naturgemäß bezüglich der Wasserorganismen, besonders der festsitzenden Fadenpilze, eine sehr verschiedenartige Verteilung, die in ihrer Eigenart zukünftig sorgfältig studiert werden muß und nur durch die nähere Kenntnis der geschilderten Verhältnisse gründlich verstanden werden kann.

§ 102. Die biologischen Selbstreinigungsprozesse im Wasser.

Wenn wir in diesem Kapitel vor allem die Mykologie der Gewässer behandeln, so darf nicht vergessen werden, daß damit nur ein einziges Glied der mehr oder weniger langen Kette wirksamer Faktoren herausgegriffen ist, dafür aber eins der wichtigsten Glieder. Es ist damit zugleich betont, daß es vor allem Pflanzen sind, welche an erster Stelle die Selbstreinigung der Gewässer besorgen.

Die Selbstreinigung von ernährenden, organischen Substanzen geschieht naturgemäß am vollkommensten, wenn diese Stoffe — wesentlich die Eiweißstoffe und Kohlenhydrate — in Kohlensäure, Ammoniak und Schwefelwasserstoff verwandelt werden, allenfalls entweichen können und damit aus dem Wasser zum Teil verschwinden. Diesen idealen Prozeß der Reinigung, die Vergasung, vollführt — freilich mit sehr verschiedener Intensität — jeder lebende Organismus vom kleinen Bazillus bis zum großen Fisch, da er organische Stoffe verbrennt (veratmet). Viele Bakterien scheiden außer der Atmungskohlensäure durch enzymatische Tätigkeit noch andere Gase ab, wie Stickstoff, Wasserstoff und Methan, und zwar in ziemlich erheblichen Mengen. Sie vergasen mehr von den gelösten Substanzen, als sie diese in feste Form zum Aufbau ihrer Leibessubstanz überführen. Man kann also sagen, daß den Bakterien da, wo sie lebhaft eingreifen können, ein sehr wesentlicher Anteil bei der Selbstreinigung zufällt. Die Bakterien nehmen dabei wie alle Pflanzen die Nahrung in gelöster Form auf und gehören demnach nicht zu den mit Mund ausgestatteten Fressern, wie die meisten, auch niedrig stehenden tierischen Organismen.

Der Beseitigung der fäulnisfähigen Stoffe durch Vergasung reiht sich als zweiter wesentlicher Faktor die Umwandlung derselben in Leibessubstanz der Organismen an, wodurch diese Stoffe zunächst als schädliche Beimengungen im Flußwasser verschwinden, aber natürlich als solche sofort wieder in die Erscheinung treten, wenn der betreffende Organismus abstirbt. Das geschieht auch häufig; aber noch öfter ereignet es sich, daß kleineren Organismen, wie z. B. den Bakterien, sich Fresser nähern und diese verschlingen. Diese Fresser werden dann wieder von größeren aufgezehrt, also z. B. Protozoen von Rädertieren, Rädertiere von Crustaceen oder Insektenlarven und so fort, bis schließlich der ursprünglich als fäulnisfähig im Wasser vorhandene Stoff als beflügeltes Insekt dem Fluß oft in ungeheuren Mengen entschwebt oder als Fisch von Raubtieren oder Menschen gefangen wird. Man vergegenwärtige sich dabei, eine wie ungeheure Zahl von Organismen gefressen werden muß, bis der große Fischkörper herangewachsen ist. Die Fresser produzieren nun freilich auch Kot, so daß ein gefressener

Organismus nicht vollständig, wenn auch zum größeren Teil, in der neuen Leibessubstanz aufgeht. Das Unverdauliche bleibt zurück und sinkt, zugleich mit abgestorbenen Organismen, zu Boden, um von Schlammbewohnern, z. B. den Detritus fressenden Tubificiden, wieder verarbeitet zu werden, als eine Substanz, welche vorher dem Fluß schon einmal entzogen war, weil als Körpersubstanz früher einem lebenden Organismus einverleibt.

Ein überall bemerkbarer Effekt der Organismentätigkeit ist, wie gesagt, die Atmung. Wir müssen also danach erwarten, daß bei Abwesenheit chlorophyllführender Gewächse in ein sich selbstreinigendes Gewässer ständig Sauerstoff hineingezogen wird, während als Endprodukt der Verbrennung Kohlensäure aus ihm entweicht, sobald durch fortgesetzte Produktion der sehr hohe Sättigungsgrad oder das Bindungsvermögen des Wassers durch Bildung von Karbonaten für Kohlensäure überschritten wird. Beide Prozesse, Sauerstoffzehrung und Kohlensäureproduktion, sind ein Maß für die Intensität des Selbstreinigungsprozesses, sind aber nur dann Anzeichen für einen gesunden Reinigungsprozeß, wenn der Sauerstoffverbrauch nicht zum vollständigen Sauerstoffschwund wird, was ja zum Erstickungstode vieler nach den vorstehenden Auseinandersetzungen für so wichtig erkannten Organismen führen würde. Diesem Erstickungstode wird oft sehr wirksam durch die Gegenwart chlorophyllhaltiger Algen, welche als Durchlüfter wirken, vorgebeugt. Sie holen aber bei der Ausführung des Assimilationsprozesses die Kohlensäure wieder ins Wasser herein und binden sie, nachdem dieselbe vorher durch andere Organismen frei gemacht worden war. Es entsteht also wieder organische Substanz im Fluß aus einem Material, welches vorher bereits bis zur Endstufe des Mineralisierens gelangt war. Solange solche Algen nicht absterben, nimmt deren Leibessubstanz im allgemeinen keinen dem Wasser schädlichen Charakter an. Es gibt aber Zeiten, wo Algen (besonders *Polycystis aeruginosa*) als Wasserblüte ziemlich plötzlich in großen Mengen auftreten, die Oberfläche eines ganzen Sees überziehen und dann auch ziemlich schnell unter Auftreten von Bakterien im Schleim der Kolonien wieder absterben und dabei durch Erzeugung fauliger Gerüche und eventuell schlechten Geschmackes des Wassers mehr oder weniger nachteilig empfundene Schädigungen hervorrufen. Wir haben es in diesem Falle mit einer typischen natürlichen Selbstverunreinigung zu tun, einem Prozeß, der glücklicherweise nur vorübergehend und in mäßiger Intensität auftritt, und dem nach neueren Untersuchungen von Moore und Kellermann (1) durch Behandlung des Wassers mit sehr wenig Kupfersulfat auch vorgebeugt werden kann. Sonst aber wirken die Algen segenspendend durch die Produktion von Sauerstoff, die um so erwünschter ist, als die Atmung im Wasser ohnehin durch den an sich geringen Sauerstoffgehalt desselben im Gegensatz zu einem gleich großen Volumen Luft ziemlich erschwert ist. Dem beim Assimilationsprozeß entstehenden Sauerstoff können wir nach den vorliegenden Untersuchungen von Pfeffer (1) nicht die kräftig oxydierende Wirkung des im chemischen Sinne nascenten Sauerstoffs zuschreiben.

Ueber das Vorhandensein einer für die Reinigung der Gewässer nützlichen Saprophytentätigkeit durch die Algen liegen in der Literatur einige Arbeiten, so von Bokorny (1) und Beijerinck (1), vor, welche sich mit der Aufnahme von gelösten organischen Nährsubstanzen aus dem Wasser durch Algen beschäftigen; vgl. auch Pfeffer (2). Dabei blieben aber bisher gerade die wichtigen Planktonalgen, wie z. B. die

Melosiren und Asterionellen, unberücksichtigt. Nach allem, was bisher bekannt, ist aber wohl anzunehmen, daß viele Planktonalgen in der Tat dem Wasser auch organische vorgebildete Substanzen entziehen. In wie beachtenswerter Menge Planktonalgen im Wasser auftreten können, 5 lehren die Untersuchungen von Volk (1), nach denen im Elbwasser bei Spadenland unweit Hamburg pro ccm 92 819 Algen vorkommen können; wir dürfen indessen nicht erwarten, daß solche Mengen an Planktonalgen sich überall in Flüssen werden finden lassen und daß überall die Algen die Bakterien an Zahl weit übertreffen.

10 Ehe wir zur Besprechung derjenigen physikalischen Faktoren (Licht und Temperatur) übergehen, welche einen wesentlichen Einfluß auf den Gang der eben geschilderten Prozesse der biologischen Selbstreinigung ausüben, seien zur näheren Erläuterung des Vorangegangenen einige Beispiele aufgeführt.

15 Als erstes Beispiel betrachten wir einen horizontal fließenden Bach, welcher infolge Zutretens von fäulnisfähigen Abwässern dicht mit *Leptomitus lacteus* ausgekleidet sei. Der Pilz ernährt sich von den im Abwasser gelösten Substanzen und wirkt dadurch als Entfäuler. Würde man den Pilz dauernd entfernen, so unterbliebe an dieser Stelle natur-20 gemäß die Reinigung, und eine neue Entwicklung von *Leptomitus*-Zotten würde weiter bachabwärts beginnen. Bei diesem Beispiel ist also an erster Stelle der Pilz *Leptomitus* bei der Selbstreinigung tätig. Diese Tätigkeit des das Bachbett auskleidenden Pilzes zeigt sich hier am sinnfälligsten nicht an der durch Atmung bedingten Vergasung der gelösten 25 organischen Stoffe, sondern durch intensive Umwandlung derselben in lebende Körpersubstanz. Es wäre unter ähnlichen Verhältnissen sehr wohl auch der Fall denkbar, daß nicht der Pilz *Leptomitus* sondern andere Fadenpilze, wie *Sphaerotilus*, bei Vorhandensein größerer Mengen von Kohlenhydraten wohl auch *Mucor* oder *Fusarium* die Reinigung in 30 annähernd der gleichen Weise vollzogen hätten.

Aus dem Vorstehenden ersehen wir, daß nicht immer alle der eingangs geschilderten Faktoren der Selbstreinigung zur Erzielung eines durchgreifenden Reinigungseffektes zusammenwirken müssen. In diesem Falle z. B. fehlten die Sauerstoff produzierenden Algen. Eine Durch-35 lüftung des Wassers wird allein durch Absorption von Sauerstoff aus der Atmosphäre bewirkt. In anderen Fällen, besonders wenn viel geringere Mengen von ernährenden organischen Stoffen in eine kleine Vorflut gelangen, kann es gerade umgekehrt sein, daß nämlich vorwiegend die Algen (*Vaucheria*-Polster, *Cladophora*-Strähnen) reinigen und dement-40 sprechend die Wasserfadenpilze vollständig fehlen. Es wäre in einem solchen Falle wohl anzunehmen, daß diese Fadenalgen ähnlich wie der Pilz *Leptomitus* einen Teil ihrer Nahrung, wie oben beschrieben, direkt dem Wasser in Form der gelösten organischen Substanzen entziehen.

Als zweites Beispiel wählen wir den Fall, daß das Bachbett strecken-45 weise stark geneigt wäre, so daß das durchströmende Wasser zu schnell die *Leptomitus*-Bestände passierte, um von diesen seiner fäulnisfähigen Stoffe beraubt zu werden. Der Pilz würde sich zwar auch ziemlich massenhaft entwickeln können, aber unter solchen Umständen auf der geneigten Strecke so wenig zur Reinigung beitragen, daß hier 50 seine Entfernung durch Ausharken keine nennenswerte Aenderung in der Wasserbeschaffenheit herbeiführen würde. Es könnte sogar passieren, daß die *Leptomitus*-Zöpfe wegen der Schnelligkeit der Strömung in größeren Mengen abreißen, fortgespült werden und sich in weiterer Ent-

fernung durch Ablagern zusammenhäufen. Unter solchen Umständen wäre eine wiederholte, geeignete Reinigung des Bachbettes zu empfehlen, um bachabwärts das Entstehen fauliger Schlammbänke durch Zersetzung des Pilzes zu verhindern. In einem solchen Falle hätten wir es also mit einer sekundären Verschmutzung zu tun, die oft weit entfernt von der eigentlichen Quelle der Verunreinigung liegen kann; vgl. auch Al. Müller (3).

Als drittes Beispiel wählen wir einen nicht zu schnell fließenden Bach mit einem dichten Bestande der Wasserpest (*Elodea canadensis*), deren Stengel fast bis an die Wasseroberfläche reichen, damit sich das Verhältnis von Wassermenge zu Pflanzensubstanz in bezug auf letztere möglichst günstig stellt. Ist das in den Bach fließende Abwasser mit seinen ernährenden organischen Substanzen nicht zu konzentriert, so wird es von der *Elodea* gut vertragen. Diese Pflanze wird nun einen Teil der verfügbaren Stoffe selbst aufnehmen, andere werden von Organismen verwendet, welche als Epiphyten (die *Elodea* als Stützpunkt verwendend) auf ihr wachsen, so z. B. *Cladothrix dichotoma*, *Leptothrix*-Arten, *Rhoicosphenia curvata* u. a. m.

Als viertes Beispiel nehmen wir einen Fall ganz anderer Art an, nämlich den verschmutzten Dorfteich und machen die für viele Fälle zutreffende Annahme, daß diesem Dorfteich Bestände höherer Wasserpflanzen fehlen. Dann bleibt uns bei der Auswahl der für die Reinigung des Wassers in Betracht kommenden Faktoren allein das Plankton inkl. Bakterien, also der Bestand an kleinen freischwebenden Organismen. *Leptomitus*, *Sphaerotilus*, *Mucor* und *Fusarium* werden wir im Dorfteich nicht zu erwarten haben, da diese Pilze im stehenden Wasser mit geringem Sauerstoffgehalt niemals in größeren Mengen vorkommen. Das Plankton des Dorfteiches pflegt sehr reichlich vorhanden zu sein und vielfach hauptsächlich aus Bakterien, farblosen Protozoen, grünen Algen, Rädertieren und Crustaceen zu bestehen. Die für uns vor allem in Betracht kommenden physiologischen Hauptverrichtungen dieser Organismen werden etwa folgende sein: Die Bakterien bauen die fäulnisfähigen Stoffe ab, vergasen sie zum Teil und verbrauchen sie zum Aufbau ihrer Leibessubstanz. Die Protozoen fressen vorwiegend, und zwar fressen sie in erster Linie die Bakterien. Das kann ein Schaden für die biologische Selbstreinigung sein, aber andererseits auch ein Nutzen insofern, als das biologische Gleichgewicht zwischen den verschiedenen nützlichen Organismen des Dorfteiches aufrecht erhalten wird. Ein Uebermaß von bakterieller Tätigkeit kann leicht zur Anhäufung von Giftstoffen führen und dadurch das Aufkommen anderer gleichfalls wichtiger Organismen neben den Bakterien verhindern. Die chlorophyllführenden Algen versehen das Wasser mit dem nötigen Sauerstoff und hemmen dadurch das Auftreten der stinkenden Fäulnis. Die sonst noch im Dorfteich vorhandenen Organismen, wie die Rädertiere und die Crustaceen, Würmer und Insektenlarven sind Bakterien-, Algen- und Schlammfresser.

Der Planktongehalt der größeren Flüsse, als des fünften Beispiels, ist sehr verschieden je nach der Strömungsgeschwindigkeit, Länge derselben u. a. m. Je größer die Geschwindigkeit und je unbedeutender die Länge eines Flusses ist, um so geringer erweist sich der Gehalt an Plankton, da dieses naturgemäß zu wenig Zeit zur Entwicklung hat. Werden Abwässer in größerer Menge in einen Fluß geleitet (z. B. Zuckerfabriksabwässer), so können dieselben zufolge Schiemenz (1) auf meilen-

weite Strecken zur Entwicklung festsitzender Pilze, z. B. *Sphaerotilus* oder *Leptomitus*, führen. Damit nimmt auch die Zahl der auf gewöhnlicher Nährgelatine entwicklungsfähigen Keime zu. Bei Einleitung geringerer Mengen fäulnisfähiger Abwässer dagegen wird deren Einfluß 5 oft nur sehr schwach sein. Will man in ungünstigen Fällen sicher gehen und die Vorflut rein erhalten, so wird dies bei einer Verdünnung von 1 : 100 Teilen reinen Flußwassers gelingen, vorausgesetzt, daß nur die gelösten Stoffe zu bewältigen sind. Ist in einen Flußlauf mit ziemlich erheblichen Mengen von Abwässern, die aber keine nennenswerten Miß- 10 stände bedingen, ein See eingeschaltet, so kann es in diesem infolge plötzlich eintretender relativer Stagnation zu lebhafter Sauerstoffzehrung im Wasser und damit zu Fischsterben kommen.

Neben den auf gewöhnlicher Nährgelatine gedeihenden Wasserbakterien (vgl. Miquel und Cambier [1]), welche bei der Selbstreinigung 15 der Flüsse beteiligt sind, gibt es auch noch zahlreiche, denen dieses Nährmedium wenig zusagt. Ihre Physiologie ist indessen bezüglich der Leistungen bei der Selbstreinigung noch wenig erforscht. Inwieweit schlammzersetzende Organismen die in schleusenlosen (also meist schnellfließenden) Flüssen schwebenden Schlammpartikel durch Festsitzen 20 auf und in denselben begleiten, ist bisher nicht näher untersucht. Wir wissen aber aus zahlreichen mikroskopischen Befunden, daß an den feinen organischen Detritusflöckchen häufig große Mengen von Bakterien zu finden sind, viel mehr als freischwebend in einem gleich großen Quantum Wasser; vergl. auch Spitta (1). Man kann wohl annehmen, daß solche 25 Keime chemotaktisch von den Sinkstoffen angezogen werden. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die schwebenden Schlammpartikel ähnlich wie die Kohlenpartikelchen beim Kohlenbreiverfahren (vgl. § 104 des 15. Kap.) im Flußwasser gelöste Stoffe absorbieren und ihre Aufnahmsfähigkeit durch Mikroorganismen wieder regeneriert wird. Das Plankton schnell strömen- 30 der Flüsse ist begreiflicherweise außer von Schwebestoffen auch ziemlich reichlich mit Organismen durchmischt, welche erratisch ins freie Wasser gerissen worden sind und normalerweise in der Uferregion und im Schlamm vorkommen.

Als sechstes Beispiel sollen die größeren Seen genannt werden. 35 Sofern diese nicht sehr flach sind, wie etwa der Plattensee in Ungarn, kommt bei ihnen als wesentlicher selbstreinigender Faktor für eingeleitete zersetzungsfähige gelöste Stoffe nur das Plankton einschließlich der Bakterien in Betracht. Ist die eingeleitete Abwassermenge sehr groß, der als Vorfluter dienende See dagegen von mäßigen Dimensionen, 40 so können sie, falls der See einen Abfluß hat, dessen Wasser zum größeren Teil verdrängen und so den See durch eintretende starke Sauerstoffzehrung die Möglichkeit zu normaler Selbstreinigung nehmen. Im Gegensatz zu dem eben Gesagten wird ein großer und tiefer See bei gleich beschaffenem Zufluß dauernd eine gute Beschaffenheit und einen niedrigen 45 Keimgehalt (30–200 Keime pro ccm) bewahren können; auch wird die Menge des Schlammes in einem solchen See annähernd die gleiche durch viele Jahre hindurch bleiben. Ganz schlammfrei kann ein solcher (praktisch gesprochen, stagnierender) See niemals sein, da ständig abgestorbene Planktonorganismen zu Boden sinken und viele derselben 50 wegen ihrer schweren Zersetzbarkeit und der am Boden solcher Seen herrschenden niedrigen Temperatur nicht sogleich aufgelöst oder vergast werden können.

In der Literatur ist mehrfach, so z. B. durch Emich, darauf hinge-

wiesen worden, daß zwischen den biologischen Reinigungsprozessen im Wasser und denen im Boden eine gewisse Aehnlichkeit besteht. Dieser Hinweis ist in der Tat zutreffend, denn in beiden Fällen müssen wir der Organismentätigkeit einen erheblichen Einfluß beim Abbau der hochmolekularen Fäulnisverbindungen zuschreiben. Mit Schmutzstoffen überlastete Flüsse funktionieren begreiflicherweise ebenso wenig wie überlastete Rieselfelder. Der ebengenannte Vergleich trifft auch in bezug auf die Durchlüftung zu, welche den meisten Lebewesen ihren Standort erst wohnlich macht. Die bei der Reinigung der Abwässer durch Berieselung oder durch Koks- und Schlackenfilterkörper (vgl. das 15. Kap.) auftretenden Organismen pflegen ähnliche zu sein wie die in den Flüssen vorhandenen, besonders soweit es sich um ihre pilzliche Natur handelt; im übrigen aber ist bei der Selbstreinigung der natürlichen Gewässer das Heer der Organismen viel mannigfaltiger, besonders wegen der formenreichen Algen. Dieser Unterschied rührt im wesentlichen daher, daß es sich im einen Falle um bloße Abwässer handelt, im anderen um Vorfluter, denen sich das Abwasser beimischt. Solche Vorfluter werden außerdem vom Sonnenlicht durchstrahlt, während bei der Koksfiltration und der Bodenberieselung nur die Oberfläche beschienen wird. Die Organismen eines Vorfluters, in welchen Abwasser geleitet wird, sind naturgemäß auch viel weniger der Gefahr des Sauerstoffmangels ausgesetzt als die Organismen in Abwasserreinigungsanlagen.

Als gutes Beispiel für den Einfluß von **Licht** und **Temperatur** mag der von Knauthe (1 u. 2) zur Sommers- und Winterszeit untersuchte Dorfteich in Sammenthin genannt werden. Dieser Teich enthielt, wie zu erwarten war, sehr große Mengen pflanzlichen und tierischen Planktons, unter dem erstgenannten vor allem *Euglena viridis*. Am Tage entwickelten diese Euglenen durch Assimilation große Mengen von Sauerstoff, der für die im Teiche lebenden Fische eine wertvolle Durchlüftung bedeutete (gegen 20 ccm Sauerstoff im Liter). In finsteren, mondscheinlosen Nächten hörte die Sauerstoffproduktion seitens der grünen Pflanzen natürlich auf, während der Sauerstoffentzug und die Kohlensäureproduktion seitens der Planktonten anhielt. Sind solche Nächte dazu noch besonders heiß, so kann sehr leicht, falls der Teich besetzt war, Fischsterben eintreten, meist dadurch bedingt, daß der Sauerstoffgehalt unter 1 ccm pro Liter herabgesunken ist.

Ganz allgemein kann man nach diesem Beispiel vom Selbstreinigungsprozeß sagen, daß eine Intensität desselben, welche den Sauerstoffgehalt in der Nacht zu sehr herabdrückt, das biologische Gleichgewicht stört. Bei Flüssen und Seen pflegen solche Kalamitäten wie die eben geschilderten verhältnismäßig selten einzutreten, da gewaltige Mengen von Abwasser in sie hineingelangen müssen, um derartig deutliche Spuren ihrer Wirkung zurückzulassen. Sie sind aber beobachtet worden, und zwar im Winter, wenn sich eine Eis- und Schneedecke auf den Gewässern bildet, die das Eindringen des atmosphärischen Sauerstoffs und der Lichtstrahlen hindert.

Nach biologischen Gesetzen lähmt Kälte im allgemeinen organisches Leben; es muß also die Intensität des biologischen Reinigungsprozesses durch sie ebenso herabgesetzt werden, wie sie durch Zunahme der Wärme gesteigert wird. Diese Tatsache macht sich auch bei den natürlichen Gewässern sehr bemerkbar. Unter der Voraussetzung, daß die Zahl der Individuen und die Wasserbeschaffenheit dieselben bleiben, muß bei Kälte eine Verzögerung der Selbstreinigung eintreten. Zahl

der Individuen und Wasserbeschaffenheit schwanken natürlich, aber soviel ist sicher, daß die Sauerstoffzehrung in den Winternächten bei sonst ähnlichen Verhältnissen viel geringer ist als in Sommernächten, offenbar ein Beweis für die langsamere Verarbeitung der im Wasser gelösten 5 Nährstoffe; vgl. KNAUTHE (2). Im Winter müßten wir nach dem oben Gesagten eine merkliche Bereicherung unserer öffentlichen Gewässer an organischen Nährstoffen konstatieren. Dies trifft auch vielfach zu, ohne daß besondere Kalamitäten dadurch hervorgerufen zu werden brauchen. Die Kälte besitzt eben eine gewisse konservierende Fähigkeit, und so 10 bleiben wohl viele zu intensiver Fäulnis neigende Stoffe vor rascher Zersetzung bewahrt, ehe sie ins Meer gelangen. Ein Unterschied in der Menge der im Sommer und Winter zugeführten organischen Stoffe wird auch dadurch bedingt, daß die sonst im Sommer dem Fluß sich beimischenden Regenmassen als Eis oder Schnee auf dem Lande zurück- 15 behalten werden, um dann bei der Schneeschmelze in Massen der Vorflut zuzuströmen. Je nach Umständen wird also der Keimgehalt der Flüsse im Winter bald größer, bald kleiner sein als im Sommer. Man vergleiche darüber TIEMANN-GÄRTNER (1), MIQUEL und CAMBIER (1), ferner FOREL (2). In Seen scheint der Keimgehalt im Winter fast durchweg größer zu 20 sein als im Sommer. Da mit der Schneeschmelze gewöhnlich auch Hochwässer eintreten, so kann man erwarten, daß viele Stoffe, welche bei beginnender Frühlingswärme der schnellen Zersetzung anheimfallen würden, durch die voraufgegangenen Hochwässer bereits ins Meer entführt sind.

25 Eine besondere Besprechung verdient die Frage der Selbstreinigung der Gewässer mit Bezug auf pathogene Keime. Diese Keime können in Typhusbakterien, Milzbrandbakterien, Choleravibrionen, Erregern der Ruhr, Wurmeiern und einigen mehr bestehen. Sind solche Bakterienkeime, die hier in erster Linie zu berücksichtigen sind, in größerer 30 Anzahl einmal mit Abwässern oder sonstigen Abfällen in einen Fluß gelangt, so interessiert uns ihr Schicksal in demselben. Alle Faktoren, welche Bakterien überhaupt vernichten, können für deren Beseitigung — im günstigsten Fall an ein und demselben Gewässer — in Frage kommen. Solche Faktoren sind:

35 1. Der Mediumwechsel überhaupt, der beim Einfließen von Abwasser in Flußwasser eintritt, doch ist der hierin liegende Faktor des Schädigens oder Tötens an sich sehr schwach und unsicher. Wegen spezifisch baktericider Eigenschaften von Gewässern vgl. FRANKLAND und WARD (1).

2. Die im Vergleich zur Körperwärme (dem Wachstumsoptimum für 40 die meisten pathogenen Keime) niedrige Temperatur des Vorfluters. Wenn diese Temperaturerniedrigung auch nicht zur Abtötung dieser Organismen genügt, so sistiert sie jedenfalls die Vermehrung derselben vollkommen oder in erheblichem Maße.

3. Bakterienfresser, wie viele ciliaten Protozoen, Rädertiere und 45 Crustaceen; vergl. u. a. KNÖRRICH (1). Sie verdauen ganz allgemein Bakterien (s. FOREL [2]), also auch pathogene (EMMERICH [1] und EMMERICH und GEMÜND [1]). Bei Beurteilung eines Gewässers bezüglich des Schicksals der Bakterien darf dieser Faktor nicht vernachlässigt werden. Es ist in jedem Falle geraten festzustellen, in welchen Mengen Bakterien- 50 fresser in einem Gewässer vorhanden sind. Ihr Vorkommen in beachtenswerter Menge ist jedenfalls ein in hygienischer Beziehung willkommener Faktor; vergl. KOLKWITZ (1).

4. Das Sedimentieren der Keime. Dieses kann nur dann als ein

wirkliches Beseitigen der Keime angesehen werden, wenn der Schlamm, in den sie beim Sedimentieren geraten, nicht aufgewirbelt wird. Dies gilt besonders von ruhigen und tiefen Gewässern, wo die Wellenbewegung nicht bis zum Boden reicht. Werden die Sedimente dagegen aufgewirbelt oder als Fladen empor gehoben, so gelangen damit auch wieder die pathogenen Keime ins Wasser, die, wie durch einschlägige Versuche festgestellt worden ist, monatelang im Schlamme ruhen können, ohne ihre Virulenz zu verlieren; vgl. RUBNER (1) und LOEFFLER (1).

5. Das Licht. Dieses ist, besonders bei großer Intensität, sicherlich ein bakterientötender Faktor (s. Bd. I, S. 449), doch ist andererseits auch allgemein bekannt, daß Bakterienkulturen, welche im diffusen Licht stehen, nicht geschädigt werden. Je mehr Keime das Licht überhaupt tötet, um so sicherer werden auch pathogene Keime beseitigt. Es ist bisher aber noch nicht möglich zu sagen, ob diese bakterientötende Lichtwirkung in praxi bei der Reinigung der Flüsse von pathogenen Keimen eine nennenswerte Rolle spielt.

6. Bewegung des Wassers, ferner höherer Kohlensäuregehalt desselben (wie vergleichsweise im Selterswasser) sowie der in der Tiefe herrschende höhere Wasserdruck üben keinen nennenswerten Einfluß auf Keime aus; vgl. DUCLAUX (2), TIEMANN-GÄRTNER (1) und A. FISCHER (1).

Man begegnet in der Literatur häufig der Ansicht, daß das Licht bei der Selbstreinigung der Gewässer eigentlich eine die Selbstreinigung verzögernde Rolle spielt, da es ja gerade die am intensivsten reinigenden Organismen, die Bakterien, abtötet. Diese Ansicht ist bis zu gewissem Grade richtig, soweit von pathogenen Keimen abgesehen wird; wo es gilt, diese abzutöten, ist das schnelle Tempo der Zersetzung fäulnisfähiger Stoffe von geringerer Bedeutung.

Bezüglich allgemeiner Literatur über die Selbstreinigung der Gewässer vergleiche man DUCLAUX (1), ERISMANN (1), FOREL (2), KÖNIG (1), K. B. LEHMANN (1), MIQUEL und CAMBIER (1), TIEMANN-GÄRTNER (1) und WEYL (1).

§ 103. Die biologischen Selbstreinigungsprozesse im Schlamm und in der Uferregion. — Ausblicke.

Jedem Wasserlauf oder Wasserbecken werden von Natur in mehr oder weniger reichlichem Maße Sinkstoffe zugeführt, welche am Boden und Ufer zur Ablagerung gelangen können. Die Ablagerungen am Ufer sind oft beträchtlich, da hier — geringe Neigung des Hanges vorausgesetzt — die Strömung am schwächsten zu sein pflegt. Diese Sinkstoffe können verschiedener Natur sein, nämlich aus anorganischen oder organischen Substanzen bestehen. Anorganische sind Lehm, Ton, Sand und Kieselschalen von Bacillariaceen, organische lebende Organismen, Stoffwechselprodukte derselben und abgestorbene Reste von solchen. Wenn untergetauchte, oft am Ufer reichlich vegetierende Wasserpflanzen im Herbst absterben, zerfallen sie und sinken zu Boden. Waren diese Wasserpflanzen, was oft vorkommt, mit Kalk bedeckt, so sammelt sich dieser am Boden und trägt zur Bildung von Seekreide bei, die aber erst durch Ausfaulen der in ihr eingeschlossenen organischen Reste rein wird; vgl. PASSARGE (1). So sehen wir Organismen sich auch an geologischen Prozessen am Boden der Gewässer beteiligen. Dies dürfte auch von den Eisenbakterien (vergl. darüber S. 209) gelten,

welche das Wasser von gelösten Eisenverbindungen reinigen helfen und gelegentlich zur Bildung von Raseneisenerz beitragen. Andere durch Pilze bedingte Prozesse im Schlamm sind die Reduktion von Sulfaten zu Sulfiden, wobei oft Bildung von Schwefeleisen durch Bindung entstehenden Schwefelwasserstoffs an Eisensalze zu beobachten ist, die Umbildung von Kohlenhydraten zu Huminsäuren u. a. m.

Die Untersuchung des Schlammes ist für die Beurteilung des Zustandes eines Gewässers oft von wesentlicher Bedeutung, denn es gibt viele Fälle, wo die Beschaffenheit des Wassers völlig einwandsfrei ist, während der Schlamm sich im Zustand deutlicher Fäulnis oder Schädigung befindet. Eine Fäulnis des Schlammes, häufig unter Entwicklung von Schwefelwasserstoff, kann in natürlichen Wässern, denen keine Schmutzstoffe zugeführt werden, vor allem dann stattfinden, wenn sie sehr verkrautet sind; in solchen Fällen beobachtet man vielfach das Auftreten roter Schwefelbakterien.

Die meisten Wässer, welche fäulnisfähige Stoffe einem Flusse zuführen, bereichern denselben auch an schlammbildenden Schwebestoffen. Im Schlamm findet eine reiche Vermehrung der Keime statt, da außer organischer Nahrung sich auch genügende Mengen wertvoller anorganischer Nährstoffe, wie Kali und Phosphorsäure (0.3—0.5 Proz. in der Trockensubstanz) finden; vgl. auch Forel (2). Auch mehrere Meter unter dem Schlamm, in der Tiefe der Flußsohle, finden sich zufolge Davids (1) noch lebende Keime. Wegen pathogener Keime im Schlamm vgl. u. a. Forel (2).

Der bei starker Verunreinigung eines Gewässers durch fäulnisfähige Abfallstoffe entstehende Schwefelwasserstoff wird nur da gebunden, wo Gegenwart gewisser Eisensalze die Bildung von Schwefeleisen ermöglicht; Zuführung sauer reagierender Abwässer kann an solchen Stellen den Schwefelwasserstoff aber wieder reichlich frei machen. Ist die Strömung eines Gewässers, dessen Schlamm viel Schwefelwasserstoff produziert, verhältnismäßig schwach, so pflegt sich solcher Schlamm bald mit einer schleierartigen, von gärenden Gasen oft durchbrochenen, weißen Schicht von *Beggiatoa* zu überziehen (vgl. die Figur 90 auf S. 414). Diese Beggiatoahaut verarbeitet den Schwefelwasserstoff und übt somit eine reinigende Wirkung auf den Schlamm aus; vgl. S. 226—228.

Während die Bildung und die Verarbeitung des Schwefelwasserstoffes ziemlich schnell verlaufen, ist der im Schlamm an zweiter Stelle zu nennende Vorgang der Cellulosegärung ein weit langsamerer Prozeß. Die dabei zu beobachtenden Einzelheiten können im 9. Kapitel dieses Bandes nachgelesen werden. Es entstehen bei diesem Prozeß Blasen von Kohlensäure, Methan (Sumpfgas) und Wasserstoff, deren Emporsteigen an die Oberfläche oft beobachtet wird. Während Schwefelwasserstoff ziemlich schnell der Oxydation durch rein chemische Prozesse verfallen kann, scheint das Sumpfgas in der freien Natur sehr beständig zu sein. Ebenso wie die Abwässer das Material für die Schwefelwasserstoffgärung liefern, führen sie den Gewässern auch Material für die Cellulosegärung zu und zwar durch Dünger, Papierfasern, Strohpartikel und Holzpflasterreste städtischer Abwässer, sowie durch Fasern aus Cellulosefabriken. Aber auch die Mengen der auf natürliche Weise absterbenden Planktonorganismen liefern durch ihre der Cellulose mehr oder weniger ähnlichen Zellhäute Stoff zu solchen Gärungen. Es ist sehr wahrscheinlich, daß sich an diesem Zerstörungsprozeß der Cellulose außer Mikrobien lebhaft auch die Detritus fressenden Schlammregenwürmer (Tubificiden) beteiligen.

Von manchen Bestandteilen des Schlammes, wie z. B. den Kieselschalen der Bacillariaceen, wissen wir, daß sie der Zersetzung oftmals widerstehen, wenigstens die der dickschaligen Formen. Die zu Boden sinkenden Schalen der planktonischen Kieselalgen enthalten bedeutend weniger Kieselsäure und mögen darum, besonders in flacheren Gewässern, 5 die meist einen sehr organismenreichen Schlamm haben, leichter der Zersetzung anheimfallen.

Oft genug mag es auch vorkommen, daß Reste abgestorbener Lebewesen, besonders von Pflanzen, zu Boden sinken und durch Veränderung der Sohle mit Sand oder Tonmassen überschüttet werden und so 10 für alle Zeiten der endgültigen Zersetzung durch biologische Prozesse entzogen werden.

In Fischteichen, wo eine künstliche Fütterung der zahlreich vorhandenen Fische stattfindet, mag wegen der Zufuhr der Nährstoffe oft eine ausgiebige Schlammbildung Platz greifen. Zur Beseitigung der- 15 selben reichen die natürlichen Prozesse meist nicht aus. Manche Fischteiche werden deshalb abgelassen und trocken gelegt, um durch landwirtschaftliche Bebauung eine Verwertung des Schlammes und damit eine Verminderung desselben zu ermöglichen; vgl. Wollny (1). Für die Fischerei ist eine gesunde Beschaffenheit des Schlammes oft von nicht 20 zu unterschätzender Bedeutung, besonders im Winter, wo viele Fische ihre Winterruhe im Schlamm zubringen und dieser durch Ausscheidung giftiger Stoffe seitens der Bakterien natürlich keine nachteilige Wirkung auf die Tiere während ihres langen Verweilens im Schlamme ausüben darf. 25

Die vorstehenden Darlegungen lehren, daß über die Selbstreinigung der Gewässer heutzutage schon ziemlich reiche Kenntnisse vorliegen und daß das Ineinandergreifen der dabei wirksamen Faktoren bereits klar erkannt ist.

Was uns für die Zukunft zu tun übrig bleibt, ist ein genaueres 30 Eingehen auf die quantitative Leistungsfähigkeit der einzelnen namhaft gemachten Faktoren. Solche Untersuchungen müssen vielfach an Ort und Stelle vorgenommen werden. Es ist zu erwarten, daß zukünftige Studien über Selbstreinigung in den tropischen und arktischen Gegenden wertvolle Rückschlüsse auf die in unseren Breiten zur Sommers- 35 und Winterszeit im Wasser sich abspielenden Prozesse gestatten werden.

Das physiologische Studium vieler (man kann sagen, der meisten) Wasser-, besonders Planktonorganismen, ist noch wenig gefördert und verdient zukünftig eingehendere Berücksichtigung. Ausgangspunkt für solche Studien muß vor allem die Reinkultur der Or- 40 ganismen sein.

Die Chemie ermöglicht zwar zurzeit sehr spezielle Analysen der im Wasser vorkommenden organischen Stoffe, aber die dabei anzuwendenden Methoden sind vielfach sehr umständlich, besonders wegen der großen Mengen zu verarbeitenden Wassers. Wir sind deshalb bis 45 jetzt leider nicht imstande, durch so scharfe und prompte Reaktion, wie sie z. B. das Nessler'sche Reagens auf Ammoniak gibt, die hochmolekularen Abbauprodukte der Eiweißstoffe, z. B. Leucin, Asparagin u. a., in großer Verdünnung nachzuweisen. Diese und ähnliche Stoffe finden sich in den Analysen immer nur unter der Sammelbezeichnung 50 Wanklyn-Stickstoff und Kjeldahl-Stickstoff. Durch Auffinden scharfer Reagentien auf die genannten und ähnliche Verbindungen würden wir zweifellos viel tiefere Einblicke in den Prozeß der Selbstreinigung ge-

winnen, als wir sie bis jetzt besitzen. Es würden sich voraussichtlich auch typische chemische Substanzen nachweisen lassen, welche die Individualität bestimmter Flüsse oder Seen in charakteristischer Weise kennzeichnen und die oft auffallenden Verschiedenheiten in den pflanz-
5 lichen Beständen begreiflich machen.

Literatur

zum Kapitel Die biologische Selbstreinigung der natürlichen Gewässer.

*Amerika siehe Massachusetts. *Assainissement de la Seine. 1868—1875. Document Nr. 1—8. ***Beijerinck,** M. W., (1) Bot. Ztg., 1890, Bd. 48, S. 725 u. f. ***Bokorny,** Th., (1) Arch. f. Hyg., 1894, Bd. 20, S. 181. ***Cohn,** Ferd., (1) Vergl. die im 15. Kap. citierten Gutachten. ***Davids,** (1) Arch. f. Hyg., 1895, Bd. 24, S. 213. ***Dirksen** und **Spitta,** (1) Arch. f. Hyg., 1899, Bd. 35, S. 83. ***Duclaux,** (1) Ann. Pasteur, 1894, Bd. 8, S. 117 u. 178. — (2) Traité de Microbiologie, 1898—1901, Bd. 1—4. ***Emich,** (1) Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. in Wien, Math.-naturw. Klasse, 1885, Bd. 91, 2. Abt., S. 67. ***Emmerich,** R., (1) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel, 1904, Bd. 8, S. 77. ***Emmerich** und **Gemünd,** (1) Münch. med. Wochenschr., 1904, S. 1089 u. 1157. ***Erismann,** (1) In Pettenkofer u. Ziemssens Handbuch d. Hygiene, 1882, Teil 2. ***Eyferth,** (1) Einfachste Lebensformen. 3. Aufl. 1900. ***Fischer,** Alfr., (1) Vorlesungen ü. Bakterien. 2. Aufl., 1903. ***Fischer,** Ferdinand, (1) Das Wasser. 3. Aufl., 1902. — (2) Die chem. Technologie d. Wassers. 1880. ***Forel,** (1) In: Zacharias, Die Tier- und Pflanzenwelt des Süßwassers. 1891. — (2) Le Léman. 1892, Bd. 1; 1895, Bd. 2; 1902, Bd. 3. — (3) Handbuch der Seenkunde. 1901. S. 208. ***Frank,** G., (1) Z. f. Hyg., 1888, Bd. 3, S. 355. ***Frankland** und **Ward,** (1) Proceed. Royal Soc. London, 1893, Bd. 53, S. 164. ***Gärtner,** (1) In: Pfeiffer, Proskauer u. Oppenheimer, Encyclopädie d. Hygiene, 1902, S. 311. ***Gérardin,** (1) Siehe: Assainissement de la Seine. ***Gerson,** (1) D. Verunreinigung d. Wasserläufe durch Abflußwässer aus Städten u. Fabriken u. ihre Reinigung. Berlin 1889, S. 141. ***Grosse-Bohle,** (1) Beiträge z. Frage d. Selbstreinigung d. Gewässer, Dissert., Münster 1900. ***Hassal,** (1) A microscopic examination of the water supplied to the inhabitants of London and the suburban districts. 1850. ***Hofer,** (1) Allg. Fischereizeitung, 1904, S. 318. ***Hulwa,** (1) Ergänz.-Hefte z. Centralbl. f. allg. Gesundheitspflege. 1883—1885, Bd. 1, S. 89. ***Jurisch,** (1) Die Verunreinigung der Gewässer. 1890. ***Kirchner** und **Blochmann,** (1) Die mikroskopische Pflanzen- und Tierwelt des Süßwassers. 1891 u. 1895. ***Knauthe,** (1) Biolog. Centralbl., 1898, Bd. 18, S. 785. — (2) Ebenda. 1899, Bd. 19, S. 783. ***Knörrich,** (1) Forschungsber. d. biol. Station zu Plön. 1900, Bd. 8, S. 1. ***Koch,** Rob., (1) Mitt. Kais. Ges.-Amt, 1881, Bd. 1, S. 1. — (2) Bericht d. Deputation f. d. Verwaltung d. Kanalisationswerke f. d. Zeit v. 1. 4. 1882 bis 31. 3. 1883. Berlin 1883, Anlage A, S. 83. ***Kolkwitz,** R., (1) Journal f. Gasbeleuchtg. u. Wasserversorgung, 1905, Bd. 48, S. 934. ***Kolkwitz** und **Marsson,** (1) Mitt. a. d. Kgl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgg. u. Abwässerbeseitigg. zu Berlin, 1902, H. 1, S. 33. ***König,** (1) Die Verunreinigung der Gewässer. 2. Aufl., 1899. ***Lauterborn,** (1) Zeitschr. f. Fischerei, 1901, Bd. 9, S. 1. ***Lehmann,** K. B., (1) Die Methoden d. prakt. Hygiene. 2. Aufl., 1901. ***Loeffler,** (1) Das Wasser und die Mikroorganismen. In Weyls Handbuch d. Hygiene, 1896, Bd. 1. ***Loew** und **Bokorny,** (1) Arch. f. Hyg., 1891, Bd. 12, S. 261. *Massachusetts, (1) Annual Reports of the State Board of Health of Massachusetts. 1.—34. Report, 1870—1903. ***Mayer,** Ad., (1) Lehrbuch d. Agrikulturchemie, 5. Aufl., 1901—1902. ***Mez,** (1) Mikroskopische Wasseranalyse, 1898. ***Miquel** und **Cambier,** (1) Traité de Bactériologie, 1902. ***Moore** und **Kellerman,** (1) Bull. Nr. 64 of the U. S. Depart. of Agriculture. Washington 1904, S. 1—44. ***Müller,** Alexander, (1) Landw. Versuchsstationen, 1873, Bd 16, S. 241. — (2) Ebenda, 1877, Bd. 20, S. 391. — (3) Gesundheit, 1902, Bd. 27, S. 125. ***Passarge,** (1) Naturwissensch. Wochenschrift, 1901, Bd. 16, S. 112. ***Pasteur** und **Joubert,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1877, Bd. 84, S. 206. ***Pettenkofer,** (1) Münch. med. Abhandlungen, 1891, V. Reihe, 12. Heft. ***Pettenkofer** und **Hofer,** (1) Die Kanalisation v. Tutzing in hygien. Beziehung. Enthalten in: Kanalisation u. Entwässerung v. Ortschaften an Binnenseen. München 1898. ***Pfeffer,** Wilh., (1) Abh. d. math.-phys. Klasse d. kgl. sächs. Gesellsch. d. Wiss., 1890, Bd. 26, S. 373. — (2) Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. 1897, Bd. 1, S. 353 ***Royal Commission** on Rivers Pollution, (1) Sechs Reports von 1868—1874. Der wichtigste First Report (1870) deutsch von Dr. O. Reich, Berlin 1871. ***Rubner,** (1) Arch. f. Hyg., 1890, Bd. 11, S. 365. ***Schenck,** (1) Centralbl. f. allg. Gesundheitspflege, 1893, S. 1. ***Schiemenz,** (1) Zeitschr. f. Fischerei, 1902, S. 147 u. 192; 1903, S. 26. ***Schorler,** (1) Zeitschrift f. Gewässerkunde, 1898, S. 251; 1900, S. 1 u. 219. ***Schröter** und **Kirchner,**

(1) Die Vegetation des Bodensees, 1896, S. 12. ***Spitta,** (1) Arch. f. Hyg., 1900, Bd. 38, S. 160. ***Tiemann-Gärtner,** (1) Handbuch d. Untersuchg. u. Beurteilg. d. Wässer, 4. Aufl., 1895. ***Volk,** Rich., (1) Mitt. a. d. Naturhist. Museum zu Hamburg, 1903, Bd. 19, S. 96, Anhang z. d. Nachträgen. ***Weigelt,** (1) Die Chem. Industrie, 1903, S. 3; 1904, S. 3. ***Weyl,** (1) Handbuch d. Hyg., Bd. 2: Städtereinigung. Jena 1897. ***Wollny,** (1) Die Zersetzung d. organischen Stoffe u. die Humusbildungen. 1897

(*Manuskript-Einlauf: 4. Nov. 1905.*)

15. Kapitel.

Mykologie und Reinigung der städtischen und der Zuckerfabriks-Abwässer.

Von Prof. Dr. R. Kolkwitz.

(Mit Tafel X.)

§ 104. Einleitung und Geschichtliches.

Im vorhergehenden Kapitel sind die einzelnen Faktoren beschrieben worden, welche in Flüssen, Seen, Teichen usw. eine Selbstreinigung dieser Gewässer ermöglichen. Dabei ist auf die Tatsache hingewiesen worden, daß die Intensität der Selbstreinigung sehr verschieden groß sein kann, 5 ein Umstand, der es bedingt, daß Städte und große Fabriken ihre Abwässer nicht durchweg ohne jede Reinigung in die bezügliche Vorflut ablassen können. In der Tat sehen wir denn auch aus dem nachstehenden Schema, daß bei verschiedenen Städten die Reinigung sehr verschieden weitgehend getrieben wird, je nach dem Verhältnis ihrer Abwässer zur 10 Größe der Vorflut. Dabei gilt das Prinzip, die Reinigung der Abwässer so weit zu treiben, daß durch das Einleiten derselben in das betreffende Gewässer keine Schädigungen entstehen. Gleiches gilt für die Reinigungsanlagen selbst; um nämlich ihr dauerndes Funktionieren zu sichern, ist bei vielen zwecks Entlastung der Anlage eine Vorbehandlung der 15 Abwässer erforderlich. Wie die Reinigungsprozesse in diesen Anlagen durch die vorwiegende Tätigkeit der Pilze verlaufen und welche Einrichtungen geschaffen werden müssen, um den Pilzen ihre Arbeitsstätte recht wohnlich zu gestalten, soll in diesem Kapitel näher geschildert werden. 20

Stadt	Vorbehandlung	Reinigung
New Orleans	fehlt	Einleiten in den Golf von Mexiko
Düsseldorf	Abfangen grober Partikel durch Rechen	Einleiten in den Rhein
Kassel	Absitzbecken	Einleiten in die Fulda
Leipzig	Klärung durch Ferrisalz	Einleiten in die Elster
Berlin	Im wesentlichen fehlend	Rieselfeld
Charlottenburg	Faulbecken	Rieselfeld
Kottbus	Absitzbrunnen	Rieselfeld
Birmingham	Faulraum	Rieselfeld und intermittierende Filtration
Merseburg	Faulraum	Biologische Füllkörper
Salford	Klärung durch Kalk und Eisensalze	Biologische Tropfkörper

Die Mykologie der städtischen und der Zuckerfabriks-Abwässer, um die es sich hier in erster Linie handelt, ist zurzeit noch verhältnismäßig wenig systematisch erforscht. aber immerhin soweit bekannt. daß sich eine zusammenhängende Darstellung über Vorkommen und Wirkungsweise der Abwässerpilze geben läßt. Jedes der beiden genannten Abwässer hat seine besonderen Eigentümlichkeiten. die natürlich auch oft in der Entwicklung typischer Pilze zum Ausdruck kommen. Die Unterschiede zwischen beiden zeigen sich in erster Linie darin, daß die städtischen Abwässer ihre an sich schon meist schwach alkalische Reaktion durch Fäulnis erhöhen. während die bei der Zersetzung zum Teil gärenden Zuckerfabriks-Abwässer zunächst sauer reagieren und erst später die entgegengesetzte Reaktion anzunehmen pflegen.

Abwässer aus Schlachthäusern haben mit städtischen, solche aus Brauereien. Brennereien und Stärkefabriken mit Zuckerfabriks-Abwässern in mykologischer Beziehung Aehnlichkeit. so daß sich eine besondere Besprechung derselben in diesem Handbuch erübrigen dürfte.

Ein spezieller Grund für die Auswahl der beiden oben genannten, hier näher zu behandelnden Abwässer ist die große Aehnlichkeit der Vorgänge bei der Selbstreinigung in den Gewässern mit der Reinigung fäulnisfähiger Abwässer, soweit nicht Zusätze von Chemikalien als Klärmittel die Natur dieser Wässer wesentlich ändern. Doch besteht insofern ein erwähnenswerter Unterschied, als der zur Oxydation der Abwässer benötigte Sauerstoff in seiner ganzen Menge aus der Luft stammt. während das Wasser der Flüsse und Seen durch seine Planktonorganismen außerdem eigene Sauerstoffquellen in sich trägt.

Im vorhergehenden Kapitel ist näher darauf hingewiesen worden, daß bei den natürlichen und künstlichen Reinigungsprozessen, soweit sie hier in Betracht kommen. dieselben oder ähnliche Organismen sich finden. auch ähnliche Gerüche in dem gereinigten Wasser auftreten. Ferner stellen sich bei Ueberlastung mit Schmutzstoffen sowohl bei der Reinigung der Abwässer wie bei der Selbstreinigung der Flüsse erhebliche und zum Teil übereinstimmende Störungen ein. Im einen Falle spricht man von einem Versagen der Kläranlagen. im anderen von einem Verpesten der Gewässer.

Die mykologische Erforschung der Reinigungsprozesse der Abwässer begann in den siebziger Jahren des vorigen Jahrhunderts. In geschichtlicher Beziehung gilt hier ähnliches wie beim Selbstreinigungsprozeß. Die Erkenntnis, daß bei den zu besprechenden Reinigungsvorgängen zahllose Mikrobien im Spiel sind. brach sich erst allmählich Bahn. Ursprünglich glaubte man es mit rein physikalischen und chemischen Prozessen bei der Reinigung zu tun zu haben. Zudem lag ein praktisches Bedürfnis zur Erforschung der bei der Abwässerreinigung sich abspielenden biologischen Prozesse zunächst noch nicht vor, da ursprünglich. etwa zu Anfang der achtziger Jahre des vorigen Jahrhunderts. berechtigte Hoffnung bestand. eine weitgehende Reinigung der Schmutzwässer allein durch Zusatz von Chemikalien. wie Kalk. Aluminiumsulfat. Eisensulfat u. a. m., zu erzielen.

Wenn es auch wenig angezeigt erscheint zu fragen, in welchem Lande die Erforschung der Reinigungsverfahren zuerst begonnen hat. da ja jedes Land seine besonders gearteten Abfallstoffe hat. ferner gleiche Maßnahmen an verschiedenen Stellen unabhängig voneinander auftreten können, so muß doch soviel als sicher angenommen werden, daß zuerst in England, um die Mitte des vorigen Jahrhunderts, das

Bedürfnis nach durchgreifender Reinigung der Gewässer nachdrücklich fühlbar wurde. Das Wachstum der englischen Städte und der Aufschwung ihrer Industrie führten begreiflicherweise durch das Uebermaß von Abfallstoffen sehr bald zu großen Mißständen betreffend Verschmutzung des Bodens und des Wassers. Wie bei der Untersuchung über die 5 Selbstreinigung der Flüsse ist es auch in diesen Punkten die ROYAL COMMISSION ON RIVERS POLLUTION, welche die einschlägigen Untersuchungen lebhaft gefördert hat, besonders durch die Studien von E. FRANKLAND; aber auch die Arbeiten der jetzt tätigen ROYAL COMMISSION ON SEWAGE DISPOSAL sind nicht minder wichtig. 10

E. FRANKLAND war derjenige, welcher im Jahre 1868 durch Laboratoriumsversuche zuerst feststellte, daß durch geeignete Bodenfiltration für lange Zeit eine Reinigung städtischer Abwässer sich auch dann erzielen läßt, wenn keine Vorklärung durch Chemikalien stattfindet und der Boden, durch den gerieselt wird, nicht mit Kulturpflanzen bestellt ist. 15

Diese Reinigung durch sogen. intermittierende Filtration erzielte sehr befriedigende Erfolge, welche den durch Rieselfelder gewonnenen Effekten gleichwertig an die Seite gestellt werden konnten. Es durfte die Berieselung auf dem unbewachsenen Boden nicht kontinuierlich betrieben werden, sondern es mußten Perioden der Ruhe 20 (Lüftung) mit solchen der Berieselung (Filtration) wechseln. Auf diese Weise war, wie leicht einzusehen ist, eine geeignete Durchlüftung des Bodens zu erzielen; vgl. BREDTSCHNEIDER und THUMM (1) und DÜNKELBERG (1).

Die Beteiligung der Bakterien an dem hier besprochenen Reinigungs- 25 prozeß war damals noch nicht bekannt, doch wurde die Aufmerksamkeit auf die Bedeutung bakterieller Tätigkeit im genannten Falle sehr bald rege, besonders nachdem SCHLÖSING und MÜNTZ gezeigt hatten (s. S. 135—136), daß bei der im Boden sich abspielenden Nitrifikation Bakterien im Spiel seien. ALEXANDER MÜLLER wies bereits im Jahre 1874 auf der Natur- 30 forscherversammlung in Breslau darauf hin, daß die Reinigung der Spüljauche durch Rieselfelder nicht rein mechanisch und chemisch bewirkt wird, sondern daß weitgehende biologische Prozesse im Spiel sind.

„Den ersten, Ende der sechziger Jahre angestellten Versuchen FRANKLAND's," heißt es bei BREDTSCHNEIDER und THUMM (1), „folgten dann, 35 angeregt durch die günstigen Ergebnisse in Lawrence (Massachusetts), im Mai 1892 weitere Versuche und zwar zunächst im bescheidenen Umfange (erste Versuche mit dem biologischen Verfahren), welche unter Leitung von W. J. DIBDIN, dem Chemiker des London County Council, ausgeführt wurden und so ausgezeichnete Resultate ergaben, 40 daß im Jahre 1893 ein größerer biologischer Körper von ca. 0,4 ha Oberfläche unter Verwendung von Koks als Füllmaterial in Barking errichtet wurde, der heute noch im Betrieb ist und intermittierend mit chemisch vorgeklärtem Wasser beschickt wird. Auch dieses ‚one acre Bacteria bed' ist von DIBDIN errichtet und von ihm betrieben worden." 45

DIBDIN (1) war auf die gute Idee gekommen, das für die intermittierende Filtration verwendete Material, also den verhältnismäßig feinen Sand, durch gröberes, nämlich durch Koksstückchen, zu ersetzen, und den Koks in wasserundurchlässige Becken zu füllen, welche abwechselnd mit dem zu reinigenden Wasser beschickt und dann entleert 50 stehen gelassen wurden (Füllverfahren).

Diese Kokskörper (vgl. die Figur 82 auf S. 400) wurden biologische Körper genannt, da auf der Oberfläche eines jeden Koksstückchens sich

in der dort haftenden dünnen Schlammschicht zahlreiche Organismen, besonders auch Mikrobien, befinden, welche die Schmutzstoffe verarbeiten. Daher auch der Name bacteria bed, Bakterien-Bett, bei den Engländern. Weiter spricht man im genannten Falle auch von Kontaktverfahren, da eben das Schmutzwasser mehrere Stunden mit den Koksstückchen in Berührung bleibt, sowie von Oxydationsverfahren, weil sich in den Körpern Oxydationsprozesse, vermittelt durch Organismen, abspielen.

Dieses Dibdin'sche Verfahren hatte in der Tat den großen Vorzug, daß sich die Filtermasse bei einigermaßen genügender Vorbehandlung in keinem Falle bedeutend verstopfte, da die Poren viel gröber waren als beim Sand.

Gleichzeitig wurden in England auch die Filtrationsversuche Frankland's fortgesetzt; hierbei resultierte gegen 1895 das sogen. Tropfverfahren, bei dem das Abwasser über große, zu etwa 2 m Höhe aufgetürmte Koksstücke herabrieselt (vgl. die Figur 83 auf S. 403), und zwar zeitweise oder ständig über die Oberfläche dieser Koksstücke durch den ganzen Körper hindurch, wobei natürlich wegen der sehr großen Poren eine dauernde Durchlüftung stattfindet.

Das sogen. Faulverfahren (vgl. die Figur 84 auf S. 404), bei welchem das Abwasser in mehr oder weniger großen Behältern aufgespeichert wird, nimmt, wie wir im § 107 sehen werden, eine besondere Stellung ein und scheint mehr nur die Rolle einer Vorreinigung zu spielen.

Alle diese biologischen Verfahren haben ein weitgehend mykologisches Interesse, da eine durch Pilze bedingte Einwirkung auf fast alle zersetzungsfähigen Bestandteile des Abwassers, die gelösten sowohl wie die ungelösten, stattfindet.

Bezüglich der bis heute besten Reinigungsmethode für fäulnisfähige Abwässer, dem Rieselfeld, sei in historischer Beziehung auf die vor einigen Dezennien ausgeführten, auf praktische Ziele gerichteten, epochemachenden Versuche in Berlin und Paris erinnert. Rieselfelder wurden seit langer Zeit zur Reinigung von Abwässern benutzt, so in Bunzlau seit 1559 und in Edinburgh seit 1760, aber die ersten theoretischen Arbeiten über die Wirkungsweise der Rieselfelder stammen erst aus neuerer Zeit; vgl. Ad. Mayer (1). Neben den genannten Verfahren zur Reinigung der Abwässer gibt es noch eine große Reihe anderer, von denen das durch seine Eigenart ausgezeichnete Degener'sche Kohlenbrei-Verfahren wenigstens erwähnt sei; es beabsichtigt Absorption der gelösten Schmutzstoffe des Abwassers durch Braunkohlenpulver und nachherige Verwendung der Sedimente als Brennmaterial.

§ 105. Die Pilze in den städtischen Rohabwässern.

Die städtischen Rohabwässer enthalten u. a. eine Reihe von Stoffen, die Nährsubstanzen für Pilze sind, nämlich Eiweißstoffe, Kohlenhydrate, Fette und Nährsalze, die letztgenannten in einer Konzentration von etwa 0,07 Proz. Die Analyse eines solchen Abwassers von mittlerer Zusammensetzung ergibt etwa die in nachfolgender Tabelle enthaltenen Werte:

Analysen von ungereinigtem und gereinigtem städtischem Abwasser.

(Die Zahlen bedeuten, soweit nichts anderes angegeben ist, Milligramme pro Liter.)

	Städtisches Rohwasser	Abfluß aus einem Faulraum	Drainwasser
Suspendierte Stoffe . . .	500—800	ca. 200	fast 0
Fette und Seifen . . .	ca. 150	vorhanden	0
Abdampfrückstand . . .	ca. 1000	ca. 1000	ca. 1000
Permanganatverbrauch .	ca. 500	ca. 400	130—200
Organischer Stickstoff . .	ca. 20	ca. 10—15	ca. 1—9
Ammoniakstickstoff . . .	ca. 70 und mehr	ca. 100	0—20
Salpeter- u. salpetrige Säure	0—3	0	50—150
Schwefelwasserstoff . . .	0 oder Spuren	ca. 15 und mehr	0
Gelöster Sauerstoff . . .	meist 0 ccm	meist 0 ccm	1—3 ccm
Keime pro ccm	3—40 Millionen	2—20 Millionen	30—100 Tausend

Bezüglich der Ausdeutung obiger Analysen sei folgendes bemerkt. Im Vergleich zu Nährlösungen, wie man sie gewöhnlich für physiologische Versuche mit Pilzen herstellt, ist das Rohabwasser als sehr verdünnt zu bezeichnen, da es nur etwa 0,1 Proz. gelöste Substanz enthält. Verhältnismäßig reichlich unter den organischen Stoffen sind stickstoffhaltige Verbindungen vorhanden. Der Gehalt der frischen Rohabwässer an Ammoniak unterliegt bei ein und demselben Wasser großen Schwankungen, da eine ständige, verhältnismäßig schnelle Umwandlung der organischen Stickstoffverbindungen in Ammoniak stattfindet; je länger ein Abwasser steht, um so mehr bereichert es sich innerhalb gewisser Grenzen mit Ammoniak. Die Oxydationsstufen des Ammoniaks, nämlich salpetrige Säure und Salpetersäure, können wir im Rohwasser kaum erwarten, da den diese Umwandlung bewirkenden Organismen der zur Oxydation nötige Sauerstoff fehlt oder, wenn bei ziemlich stark verdünnten Abwässern etwas Sauerstoff aufgefunden wird, so verschwindet dieser bald und eventuell eingetretene Oxydationen würden Reduktionen wieder Platz machen müssen. Da Regenwässer (vgl. S. 2) oft viel Salpetersäure enthalten, können durch diese bei Mischsystemen Nitrate ins Rohabwasser gelangen. Ein normales Rohabwasser enthält, was uns hier am meisten interessiert, zahllose Bakterien, zu denen der Kot zunächst das Hauptkontingent stellt. Ziemlich stark konzentrierte Abwässer enthalten pro ccm 10—40 Millionen Keime, darunter zahlreiche Individuen von *Bacterium coli* aus dem Darm (vgl. S. 93). Genauere Untersuchungen neueren Datums über die Bakterienmengen im menschlichen Kot verdanken wir Matzuschita (1). Nach diesem Autor bleibt die höchste Zahl der unter den günstigsten Bedingungen aus einem mg Fäces gewachsenen Bakterienkolonien (ca. 18 Millionen) noch weit hinter der Zahl der aus 1 mg einer Oberflächenkultur von *Bacterium coli commune* gewachsenen Kolonien (ca. 700—1000 Millionen) zurück. Neben den Aerobiern finden sich naturgemäß auch viele Anaerobier im Darm, doch ist die Menge der Gattungen und Species der widerstandsfähigen Dauerformen in den Fäces nur sehr gering. Die Zahl der isolierten Arten beträgt nach genanntem Autor 44.

Neben *Bacterium coli* sind aus den Abwässern noch eine ganze Reihe anderer isoliert worden, z. B. *Bacillus fluorescens*, *B. subtilis*, *Proteus vulgaris*, Buttersäure-Bakterien, Kokken aller Art und Sarcinen,

Spirillen und Schwefelbakterien. Bezüglich weiterer Aufzählung vgl. man MEZ (1), WOLLNY (1), ALFRED FISCHER (1), BANDMANN (1), KÖNIG (1), ROYAL COMMISSION ON SEWAGE DISPOSAL (1), MIQUEL und CAMBIER (1). Aus den an den citierten Stellen aufgezählten Listen ergibt sich, daß neben den Bakterien auch eine ganze Reihe von Schimmelpilzen, zunächst meist in Sporenform, im Abwasser vorkommen und, wie die Studien von BANDMANN (1) lehren, bei geeigneter Versuchsanstellung in großer Menge aus diesen kultiviert werden können.

Es leuchtet natürlich ohne weiteres ein, daß die Zahl der bisher aus Abwasser isolierten Bakterien und Schimmelpilzen bei weiterer Forschung noch um einen erheblichen Teil wird vermehrt werden können.

Sobald städtische Abwässer einige Tage im Zimmer, am besten in offenen Gläsern, aufbewahrt werden, ändert sich das vorher mikroskopisch ziemlich monotone Bild ganz wesentlich: Die Spirillen nehmen an Zahl erheblich zu und es tritt gewöhnlich die Chlamydomonadee *Polytoma uvella* in großer Menge auf, wie KOLKWITZ und MARSSON (1), ferner MARSSON (1) gezeigt haben. Auch *Sarcina paludosa* und *Monas gliscens* EHRENBERG sind als häufig vorkommende Formen zu erwähnen; das letztgenannte steht wahrscheinlich den Bakterien ziemlich nahe.

Reiche und massenhafte Pilzvegetationen, z. B. von *Mucor*, pflegen sich an den Seitenwänden von Kanalisationssielen nahe der Wasseroberfläche zu entwickeln. An dieser Grenze zwischen Wasser und Luft stehen ihnen im Gegensatz zu den Verhältnissen in Faulflüssigkeiten ziemlich reichliche Mengen von Sauerstoff zur Verfügung, woraus sich die üppige Entwicklung solcher Pilzmycelien an diesen Stellen erklärt.

Da, wo Rohabwässer zum Ansammeln derselben oder zum Absinkenlassen der mitgeführten gröberen Stoffe aufgespeichert werden, sind Spirillen natürlich auch in größerer Menge zu beobachten, ferner rote Schwefelbakterien (*Lamprocystis roseo-persicina*, *Chromatium Okenii* und *Ch. vinosum*), welche bisweilen ziemlich umfangreiche Ueberzüge von der Farbe des Rotkohls auf solchen schmutzigen Gewässern bilden. Da, wo Gelegenheit zum Festsitzen und zur Aufnahme einer gewissen Menge von Sauerstoff gegeben wird, z. B. an den Rändern von Sedimentierbecken, findet man auch die weißen Schwefelbakterien, sowie die für fäulnisfähige Schmutzwässer sehr charakteristische und in den Figuren 85 und 86 auf Seite 410 abgebildete *Zoogloea ramigera*. Die zahlreichen Bakterien, welche an solchen Stellen zu beobachten sind, werden vielfach durch Bakterienfresser — wie *Paramaecium caudatum*, *P. putrinum*, sowie *Vorticella microstoma*, Bodonen und Monaden — verzehrt. In solchen größeren Sammelbecken pflegt, wie im § 107 noch näher ausgeführt werden soll, die ganze Oberfläche sich mit einer Schwimmschicht zu überziehen, welche von zahlreichen Mycelfäden niederer und höherer Pilze dicht durchflochten ist.

§ 106. Mykologie der Rieselfelder.

Ehe man die zu reinigenden Rohabwässer auf das Rieselfeld (*Fig. 87*) fließen läßt, kann es, besonders bei Mangel an Terrain, zweckmäßig sein, die gröberen Schwimm- und Sinkstoffe durch geeignet konstruierte Absitzbecken aus dem Wasser abzuscheiden; solche Becken gestatten aber außerdem noch eine gute Mischung der naturgemäß aus sehr verschiedenen, zum Teil giftigen Bestandteilen zusammengesetzten Abwässer. Ein

solches Absitzbecken, wie es in der Figur dargestellt ist, ist verhältnismäßig flach, d. h. nur wenige Meter tief, und enthält an der Stelle, wo das Wasser einströmt, ein Eintauchbrett, durch welches verhindert wird, daß die Schlammmasse im Becken durch das zuströmende Wasser aufgewirbelt wird. Bald nach dem Eintritt des Abwassers werden die schwereren Sinkstoffe, wie Sand, Kaffeesatz etc., sich zu Boden setzen, die leichteren (z. B. Fette) dagegen und solche Schlammpartien, welche durch Gärblasen in die Höhe getrieben werden, sich hinter diesem Eintauchbrett an der Oberfläche sammeln und dort eine Schwimmdecke bilden. Ein weiteres Eintauchbrett am Ausfluß der Abwässer aus den Becken verhindert, daß die Bestandteile der Schwimmdecke aus dem Becken abfließen. Der Boden des Absitzbeckens wird zweckmäßig in der durch die Zeichnung skizzierten Weise geneigt, weil dadurch erreicht wird, daß der Schlamm leichter zu entfernen ist, und beim Aufsteigen von Schlammteilen nach der Oberfläche keine Teile hinter das zweite Eintauchbrett und damit in den Abfluß des Absitzbeckens gelangen. Es ist sehr zweckmäßig, das Wasser in breitem Strom über einen Ueberfall aus dem Becken heraustreten zu lassen, weil dadurch am ehesten für eine relative Ruhe des das Becken passierenden Wassers gesorgt ist. Es ist leicht einzusehen, daß an solchen Ueberfallstellen wegen des Zutrittes von Sauerstoff besondere Gelegenheit zur Entwicklung von festsitzenden Abwasserpilzen gegeben ist.

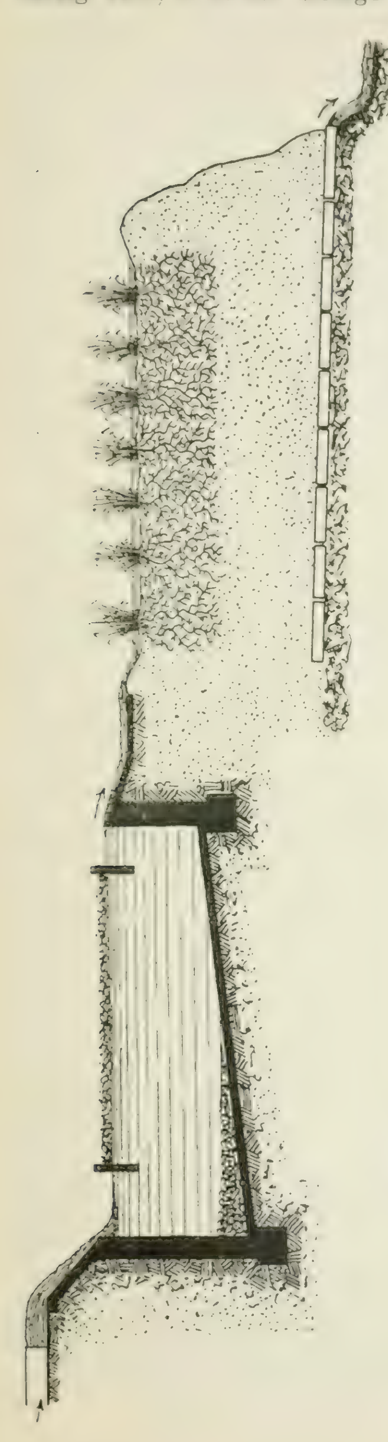


Fig. 81. Schematischer Querschnitt durch ein Rieselfeld mit vorgeschaltetem Absitzbecken.

Das von gröberen Schwebeteilen durch die Wirkung des Absitzbeckens befreite Abwasser wird nun, wie die Figur zeigt, auf Rieselland geleitet, welches im vorliegenden Falle mit Gras bewachsen ist. Die noch vorhandenen Schwebestoffe werden auf der Oberfläche des Rieselfeldes zurückgehalten, während das Wasser durch die feinen Poren des Bodens läuft, hier in kapillare Fäden aufgelöst wird und gemäß der Struk-

tur des Bodens in diesem vielfach an kleine Lufträume grenzt. Im Boden unterliegt das Wasser überall der Zersetzung durch Organismen. Die Wurzeln der Gräser, welche den filtrierenden Boden durchziehen, nehmen aus demselben wertvolle Nährstoffe, wie Phosphate, Kaliumverbindungen und Nitrate, auf, vielleicht auch in mehr oder weniger reichem Maße organische Nährstoffe und tragen zur Auflockerung des Bodens bei; vgl. Ad. Mayer (1). Wären die Kulturpflanzen auf dem Rieselfeld nicht vorhanden, so würden die genannten Stoffe zum größeren Teil natürlich mit den Drainwässern abfließen. Diese Drainwässer sind im wesentlichen weiter nichts als die gereinigten Abwässer, welche beim Passieren des Bodens ihre Fäulnisfähigkeit in normalen Fällen vollständig verloren haben, durch die Stoßfugen der Drainröhren in diese eindringen, sich hier sammeln und schließlich zum Abfluß gelangen. Wegen der Analyse der Drainwässer vgl. S. 395.

Bei der Bodenfiltration sind zwei verschiedene Prozesse zu unterscheiden, nämlich die Absorption der Schmutzstoffe durch physikalische und chemische Prozesse, sowie die Regeneration des Bodens durch Organismen nach erfolgter Absorption.

Die Schmutzwässer, welche auf dem Rieselfeld versickern, verlieren den größten Teil ihrer gelösten Stoffe zunächst durch Absorption, welche sich in der Weise vollzieht, daß die Sandkörnchen und die ihnen anhaftenden feinen, vorwiegend organischen Ueberzüge diese Stoffe durch Oberflächenanziehung und chemische Prozesse zunächst binden. Diesen Vorgang kann man in der Weise veranschaulichen, daß man einen mit Sand gefüllten Trichter mit einer wässerigen Lösung von Methylenblau übergießt; dann wird der Farbstoff absorbiert, während das Wasser farblos abfließt. Das Aufgießen solcher Methylenblaulösungen kann man so lange fortsetzen, bis die Absorptionskraft des Sandes durch genügende Aufnahme von Farbstoff erschöpft ist; von diesem Zeitpunkt an wird weiter aufgegossene Methylenblaulösung unverändert abfließen, da eine Regeneration nicht mehr möglich ist, denn der Farbstoff wird durch Organismen nicht oder kaum zersetzt. Andere Farbstoffe dagegen, wie Fluorescein, werden nicht absorbiert, sondern fließen fast unverändert durch. Gleiches wissen wir von manchen Bestandteilen der zu reinigenden Wässer, nämlich von den Nitraten und Chloriden.

Nach der Absorption von Schmutzstoffen durch ein Rieselfeld beginnen die Mikrobien des Bodens — besonders zur Zeit des Nichtrieselns (Belüftens) —, die fäulnisfähigen Stoffe teils als Nahrung aufzunehmen, teils zu zerspalten und zu oxydieren. Bei diesem Prozeß des Mineralisierens der Abwässer im Boden scheinen chemische Prozesse eine jedenfalls sehr untergeordnete Rolle zu spielen.

Das Resultat des Zusammenarbeitens aller im Boden vorhandenen Organismen ist eine sehr weitgehende Reinigung des Wassers, wie aus der auf Seite 395 mitgeteilten Drainwasseranalyse hervorgeht. Zur Ausdeutung dieser Analyse sei folgendes bemerkt: Der Gehalt an gelösten Stoffen hat sich im allgemeinen wenig geändert, aber die Natur der gelösten Stoffe hat eine ganz wesentliche Umwandlung erfahren. Der organische Stickstoff ist sehr beträchtlich vermindert und dafür die höchste Oxydationsstufe des Ammoniaks, die Salpetersäure, entstanden. Arbeitet ein Rieselfeld durch Ueberlastung weniger gut, so findet man im wesentlichen Ammoniak und verhältnismäßig wenige Nitrate; in der Regel ein Zeichen, daß die Durchlüftung des Bodens eine mangelhafte ist. Die Zahl der Bakterienkeime hat gegenüber dem Rohwasser, wie

die Tabelle lehrt, ganz bedeutend abgenommen. Bezüglich der Krankheitskeime wissen wir, daß das Rieselfeld dasjenige Reinigungsverfahren ist, welches ohne Anwendung von Desinfektionsmitteln die pathogenen Keime am weitgehendsten entfernt und zwar sowohl rein mechanisch und chemisch, wie auch durch Konkurrenzkampf. 5

Ueber Organismen des Rieselbodens sind uns nur in verhältnismäßig wenigen Arbeiten Mitteilungen gemacht worden. Wir wissen aber immerhin soviel, daß an Mikrobien besonders Bakterien, Schimmelpilze und Hefen in Betracht kommen. Man vergleiche darüber ADAMETZ (1), WOLLNY (1), FRÄNKEL (1), AD. MAYER (1), ROYAL COMMISSION ON SEWAGE 10 DISPOSAL (1).

Da die oberen Schichten eines Rieselfeldes einen mehr dumpfig unangenehmen Geruch haben, die unteren dagegen einen mehr erdigen, so folgt schon hieraus mit größter Wahrscheinlichkeit, daß das Wasser beim Durchrieseln des Bodens nacheinander Zonen passiert, welche von sehr 15 verschiedenen Organismen bewohnt werden. Neben den Mikrobien finden sich natürlich auch höhere Organismen im Boden, wie z. B. Regenwürmer, welche neben den Schimmelpilzen eine sehr wesentliche Rolle bei der Auflockerung des Bodens sowie bei der Beseitigung gröberer Stoffe spielen. 20

Ist ein Rieselfeld überlastet, so wird das richtige Verhältnis zwischen Absorption und Regeneration zu Ungunsten der erstgenannten oft so weit verändert, daß die Abwässer nur sehr schwach gereinigt die Drainröhren verlassen. Diese Erscheinung kann besonders im Winter eintreten, wenn die durch die Kälte gelähmte Tätigkeit der Mikrobien die 25 Wiederherstellung der Absorptionskraft des Bodens sehr beeinträchtigt. Diese Beeinträchtigung zeigt sich auch deutlich an dem Zurückgehen der Nitratbildung, ein Umstand, der dadurch leicht verständlich wird, daß die nitrifizierenden Bakterien bei etwa 5° C ihre Lebenstätigkeit fast sistieren (s. S. 136). Ueber das Vorkommen nitrifizierender Bakterien 30 im Rieselboden und im Abwasser vgl. SCHULTZ-SCHULTZENSTEIN (1).

Ein weiterer Faktor, der unter Umständen das Funktionieren eines Rieselfeldes sehr beeinträchtigen kann, ist das mit dem Abwasser zugeführte Fett. Dasselbe kann sich in den oberen Poren des Sandes festsetzen und dadurch das Eindringen des Sauerstoffs zu tieferliegenden 35 Schichten erschweren. Es findet zwar durch Bakterien und Schimmelpilze, z. B. durch *Bacillus fluorescens*, *Oidium* und *Penicillium*, eine Zersetzung des Fettes statt, aber in ziemlich geringem Maße, so daß die oben geschilderte Kalamität bestehen bleiben kann. Die Fettzersetzung ist von K. SCHREIBER (1) einem näheren Studium unterworfen worden. 40 „Wie wir sahen," heißt es Seite 340, „kommt das Fett sowohl als Neutralfett mit mehr oder weniger freien Fettsäuren oder als Seife in die Abwässer. Hier beginnt nun sofort eine lebhafte Fettspaltung und Fettzehrung, an der sich in dem alkalischen Kanalwasser zunächst wohl hauptsächlich die Bakterien beteiligen. Das bei der Spaltung des Neu- 45 tralfettes entstehende Glycerin löst sich im Wasser und wird von den Mikroorganismen leicht assimiliert, während die freigewordenen Fettsäuren, jedoch nur zum Teil, als Seifen gebunden werden. Die Seifen, mögen sie nun als solche bereits in die Abwässer hineingelangen oder aus den bei der Spaltung des Neutralfettes entstandenen Fettsäuren 50 hervorgegangen sein, werden von den Mikroorganismen wieder zerlegt und ebenso wie die freien Fettsäuren weiter verarbeitet."

Jedesmal, wenn die Drainwässer, welche von einem Rieselfeld ab-

fließen. ungenügend gereinigt sind, werden sich von der Einmündungsstelle in den Vorfluter an in diesem Uebelstände durch Wasserpilze, wie *Leptomitus, Fusarium* u. a. m., einstellen. Die bereits vorher erwähnte Tatsache, daß Nitrate und andere Stoffe in nicht unwesentlichen Mengen 5 mit den Drainwässern abfließen, hat neuerdings Anlaß dazu gegeben, die Drainwässer in Teichen aufzusammeln und diese mit Fischen zu besetzen. Es ist wohl zu erwarten, daß auch minder gut gereinigte Drainwässer nach einigem Aufenthalt in solchen Teichen den Wasserpilzen keine Möglichkeit zu weiterer Entwicklung geben werden.

10 § 107. Mykologie der biologischen Körper, Gradierwerke und Faulkammern.

Wie aus der beistehenden *Fig. 82* ersehen werden kann, sind **biologische Füllkörper** zum Reinigen der Abwässer künstlich aufgebaut und zwar so, daß in ein Becken von etwa 1 m Höhe Koks- 15 stückchen oder Schlackenpartikel von 3—10 mm Korngröße eingefüllt sind. Diese Körper werden mit dem zu reinigenden Abwasser bis obenhin gefüllt, wobei zweckmäßig für eine Verteilung des auffließenden Rohwassers durch Rinnen gesorgt wird. Maschinenkraft ist dabei nicht erforderlich. Das Wasser dringt durch die verhältnismäßig groben 20 Poren des Filtermaterials nach unten durch und erfüllt zuletzt den ganzen Körper, so daß das Filtermaterial mit Ausnahme der Oberfläche

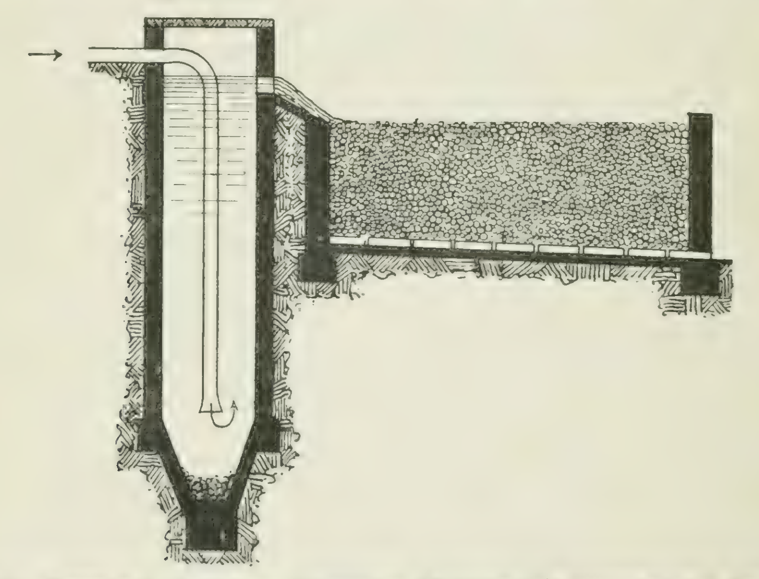


Fig. 82. Querschnitt durch einen biologischen Füllkörper mit vorgeschaltetem Sandfang.

vollkommen unter Wasser ist. So bleibt das Rohwasser etwa 2 Stunden in dem Becken stehen und wird dann durch die auf der etwas geneigten Sohle des Beckens liegenden Drainröhren abgelassen. Bei ordnungs- 25 mäßigem Betrieb und richtiger Konstruktion der Filterkörper wird dabei ein sehr gut gereinigtes, dem Drainwasser bis zu einem gewissen Grade

ähnliches Produkt erzielt. Dazu ist aber nötig, daß die Körper „eingearbeitet" sind, d. h. daß jedes Koks- oder Schlackenstückchen sich mit einer Schlammschicht überzogen hat, in welcher die reinigenden Organismen leben und eine ähnliche Tätigkeit ausüben wie beim Rieselfeld. Auch bei den Kokskörpern wird die Regeneration durch mehrstündiges Leerstehen derselben erzielt.

Die Absorption erfolgt verhältnismäßig schnell, etwa in 20 bis 30 Minuten, so daß also nach diesem Zeitpunkt das Wasser schon als ziemlich vollständig gereinigt abgelassen werden könnte, woraus hervorgeht, daß die Reinigung des Wassers im wesentlichen nicht durch Organismen geschieht, daß diese aber die für das dauernde Arbeiten der Kokskörper nötige Regeneration derselben besorgen; vgl. Dunbar und Thumm (1).

Die Rohwässer, welche in einen solchen mit Koks- oder Schlackenstückchen gefüllten Körper geleitet werden, befreit man natürlich zweckmäßig von gröberen suspendierten Stoffen und von mitgeführten Sandkörnern. Zum Abfangen der letztgenannten kann man sich, besonders bei Terrainmangel, sogen. Klärbrunnen bedienen. Ein solcher ist in der Zeichnung dem Füllkörper vorgeschaltet; man sieht, daß ein weit herabreichendes Rohr die Abwässer zuführt, und daß diese dann unter Zurücklassung der gröberen Stoffe allmählich in dem Brunnen emporsteigen und schließlich überfließen.

Wie besonders im § 102 des 14. Kapitels näher auseinandergesetzt worden war, sind die äußeren Anzeichen für lebhafte Organismentätigkeit Sauerstoffverbrauch und Kohlensäureerzeugung. Beides ist auch bei den Füllkörpern in reichem Maße zu beobachten, und deshalb ist es um so begreiflicher, daß auf Perioden des Vollstehens solche der Durchlüftung folgen müssen. Auf diese Weise wird erzielt, daß dem Wasser die Fäulnisfähigkeit genommen wird, ohne daß es selbst den Prozeß der Fäulnis durchmacht. Was eben stattfindet, ist eine allmähliche und langsame Verbrennung. Das während der Perioden des Vollstehens zu beobachtende Entweichen von freiem Stickstoff ist vielleicht teilweise auf Bakterientätigkeit und zum anderen Teil auf chemische Umsetzungen zurückzuführen. Vgl. dazu S. 108 und S. 185—188.

Die intensiven Atmungsprozesse der Organismen im Füllkörper bedingen naturgemäß auch eine Temperaturerhöhung in demselben, die im Maximum 10° betragen kann. Diese Temperaturerhöhung ist ein nicht zu unterschätzender Vorzug, den das Verfahren (sogar gegenüber dem Rieselfeld) mit sich bringen kann, besonders wenn es sich um Schutz gegen Winterkälte handelt. Aber trotzdem ist natürlich nicht zu verhüten, daß im Winter diese Füllkörper sich erheblich abkühlen und bei gleicher Belastung nicht so gut arbeiten als im Sommer.

Der Schlamm, welcher sich naturgemäß in den Füllkörpern ansammelt, darf bei richtigem Betriebe niemals einen fauligen Geruch zeigen, sondern muß, besonders in den unteren Schichten, den charakteristischen modrig-erdigen Geruch aufweisen, den wir auch bei den gereinigten Wässern finden. Im übrigen aber ist eine besondere Differenz in der Beschaffenheit oberer und tieferer Schichten der Natur der Sache nach kaum zu erwarten. Wir werden also, außer bei intensiver Bestrahlung durch die Sonne, nicht damit rechnen dürfen, dauernd andere Organismen in den verschiedenen Schichten zu finden.

Neben den Mikroorganismen finden sich, wie man sich leicht überzeugen kann, auch höhere Organismen in großer Menge, z. B. Regen-

würmer und Insektenlarven, welche auch zur Reinigung beitragen; vgl. Dunbar und Thumm (1) und Marsson (1).

Die Zahl der Bakterien wird in den Füllkörpern gegenüber ihrer Zahl im Rohwasser nur unwesentlich vermindert. Man kann sagen, daß bei erbsengroßen Schlackenstückchen etwa eine Abnahme auf die Hälfte stattfindet. Im abfließenden gereinigten Wasser werden also sicher annähernd noch eine Million Keime pro ccm vorhanden sein. Unter diesen befinden sich selbstverständlich zum Teil andere als in dem aufgeleiteten Rohwasser. Krankheitskeime werden nur in geringer Menge zurückgehalten. Zu Epidemiezeiten ist also eine Desinfektion der Wässer vor dem Einleiten in öffentliche Gewässer erforderlich. Eine solche Desinfektion ist natürlich immer eine sehr schwierig auszuführende Maßnahme und kann im Großbetrieb selten ordnungsgemäß durchgeführt werden. Man verwendet in der Regel 1 Teil Chlorkalk auf 10 000—20 000 Teile Wasser und nimmt an, daß bei 2-stündiger Einwirkungsdauer die pathogenen Organismen abgetötet sind. Bei Abwässern aus der Infektionsabteilung von Krankenhäusern ist selbstverständlich gründliche Desinfektion ständig und dringend geboten. Bei der relativ geringen Menge der Krankenhausabwässer ist sie auch verhältnismäßig leicht durchzuführen, ebenso bei Senkgruben, welche man desinfizieren will. Der Chlorkalk wird für diese Zwecke dem Aetzkalk im allgemeinen vorgezogen, da von ihm weit weniger Material zur Desinfektion erforderlich ist und er schneller wirkt. Wegen näherer Angaben über andere Desinfektionsmittel vergleiche man Dunbar und Zirn (1). Die nachherige Unschädlichmachung des Chlorkalks geschieht durch Zufügen von Eisensalzen.

Die chemische Analyse der durch Füllkörper gereinigten Abwässer ist von ähnlicher Beschaffenheit, wie sie die von Rieselfeldern abfließenden Drainwässer aufweisen (vgl. die Analyse auf S. 395), natürlich unter anderem mit dem Unterschied, daß eine Aufnahme von Nitraten durch Wurzeln von Kulturpflanzen nicht stattfindet. Die Menge der Schwebestoffe wird in der Regel entsprechend der größeren Porosität weniger herabgesetzt als bei Drainwässern. Aber diese Schwebestoffe haben wesentliche Aenderungen erfahren und ihre Fäulnisfähigkeit erheblich oder ganz eingebüßt. Der Gehalt an gelöstem Sauerstoff kann nach Lage der Sache bei den von Füllkörpern abfließenden Wässern, wenn er überhaupt vorhanden ist, sicherlich nicht sehr groß sein. Jedenfalls wäre 1 ccm pro Liter das Maximum. Deutliche Entwicklung von Fadenpilzen, wie *Sphaerotilus* und *Leptomitus*, findet in ordnungsgemäß durch Füllkörper gereinigten Abwässern nicht statt. Weitere Angaben über Art, Zahl und Infektiosität der Organismen in Füllkörpern mögen in den neueren Berichten der Royal Commission on Sewage Disposal eingesehen werden. Allgemeine Angaben finden sich bei Barwise (1), Dibdin (1), London County Council (1), Manchester Report (1), Rideal (1), Thumm (1).

Biologische Tropfkörper sind, wie in der Einleitung bereits gesagt ist, erst gegen 1895 konstruiert worden, und zwar zuerst in England. Wie die *Fig. 83* zeigt, besteht ein Tropfkörper aus über Mannshöhe übereinander geschichteten großen Koksstücken, welche freistehen können, unter Umständen aber gegen zu heftige Winde geschützt werden müssen. Die Verteilung des zufließenden Abwassers ist dann am zweckmäßigsten, wenn sie möglichst gleichmäßig über die Oberfläche stattfindet. Ein solcher Effekt wird vielfach dadurch erzielt, daß man über der Oberfläche des Tropfkörpers einen sogen. Sprinkler (Besprenger),

getrieben durch die Rückstoßbewegung des ausfließenden Abwassers nach Art eines Segner'schen Wasserrades, rotieren läßt. Das Wasser durchrieselt nun allmählich den Körper an der Oberfläche der großen Koks- oder Schlackenschichten entlang unter ständigem Kontakt mit Luft. Auch hierbei wird Absorption durch Oberflächenanziehung und Regeneration durch Organismen stattfinden, aber diese beiden Prozesse treten dem Beobachter nicht in scharfer Sonderung entgegen, sondern finden gleichzeitig statt, da der für die regenerierenden Organismen nötige Sauerstoff ständig zur Verfügung steht. Ein solcher Tropfkörper mit seinem Wasserstrom und seinen Organismen ist deshalb sehr wohl mit einem sich selbstreinigenden Fluß zu vergleichen. Das Wasser, welches gereinigt von den Tropfkörpern schließlich abfließt, hat seine Fäulnisfähigkeit vollständig verloren und besitzt, ordnungsmäßigen Betrieb der Anlage vorausgesetzt, etwa die gleiche Beschaffenheit wie das durch Füllkörper gereinigte Wasser. Der Abbau der fäulnisfähigen Stoffe kommt auch hier wie beim Füll- und beim Rieselfeld-Verfahren am besten durch die erhebliche Abnahme des organischen Stickstoffes zum Ausdruck. Die Zahl der Keime wird bei faustgroßen Schlackenstücken vermindert, es bleibt aber etwa noch ein Drittel der ursprünglich im Rohwasser vorhandenen Menge übrig, die Qualität derselben mag sich dagegen erheblich ändern. Eine gründliche Beseitigung von Krankheitskeimen ist ebenso wie beim Füllverfahren auch hier nicht zu erwarten. Der Schlamm wird nach der ganzen Sachlage natürlich in verhältnismäßig großer Menge ausgespült werden, aber er besitzt wesentlich andere Beschaffenheit als der aufgeleitete, in chemischer sowohl wie in physikalischer Beziehung: in chemischer insofern, als ihm, wenn nicht absterbende Organismen ausgeschwemmt werden, der größte Teil der Fäulnisfähigkeit genommen wird und er eine teilweise Umwandlung in humusähnliche Stoffe erfährt, in physikalischer, indem er leichter trocknet als der Rohschlamm. Inwieweit der Schlamm an Menge gegenüber dem auf die Filterkörper geleiteten abgenommen hat, ist zur Zeit schwer zu sagen, aber soviel ist wohl anzunehmen, daß diese Abnahme dem Quantum nach nicht sehr bedeutend ist. Ein beachtenswerter Unterschied gegenüber den Füllkörpern besteht darin, daß die Organismen in den verschiedenen Schichten einigermaßen verschieden sein müssen, denn es leuchtet ein, daß im oberen Teil des Tropfkörpers das Wasser als Rohwasser herunterrieselt, in der Mitte schon mindestens halb gereinigt ist und bei Annäherung an den Boden des Tropfkörpers seiner definitiven Reinigung immer mehr entgegengehen muß.

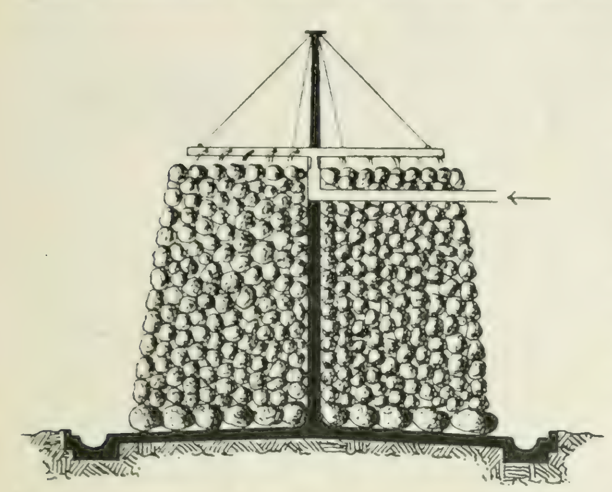


Fig. 83. Querschnitt durch einen biologischen Tropfkörper.

Bei der ziemlich selten vorkommenden Reinigung von Abwässern durch **Gradierwerke** läßt man dieselben, wie bekannt, über eine mehr oder weniger hohe Reisigwand herabrieseln. Man sieht also ohne weiteres, daß Gradierwerke im Prinzip Aehnlichkeit mit Tropfkörpern haben müssen und daß je nach Höhe und Zweckmäßigkeit der Anlage natürlich auch ähnliche Reinigungseffekte erzielt werden. Nur ist zu beachten, daß solche Gradierwerke im allgemeinen der Kälte sehr zugänglich sind und wegen des leichten Zutritts von Winden häufig Anlaß zu Geruchsbelästigungen geben können. Wo fäulnisfähige Rohabwässer auf solche Gradierwerke geleitet werden, wird man natürlich die Entwicklung von Abwasserpilzen, wie *Sphaerotilus*, *Mucor* usw., erwarten dürfen. Angaben darüber liegen in der Literatur nur spärlich vor; man vergleiche Mez (1), Appel und Buchner (1) und König (1).

Das **Faulverfahren** bedeutet im wesentlichen die Reinigung durch zwei hintereinandergeschaltete Faulbecken (engl.: septic tanks); vgl. *Fig. 84.* Das Wasser entledigt sich beim Einströmen in den ersten seiner gröberen Sinkstoffe, bildet bei überdeckten Anlagen unter dem Schutz zweier Eintauchbretter eine feste Schwimmdecke und tritt nun, von Sedimenten weitgehend befreit, in den zweiten Körper. Hier erfolgt wiederum ein Absinken von Schwebestoffen, nämlich von den aus dem ersten Körper herübergetretenen, aber die Menge derselben ist nur unbedeutend, ebenso die Schwimmschicht. Schließlich sehen wir das Wasser, von Schwebestoffen weitgehend befreit, über den Ueberlauf des zweiten Beckens heraustreten. Es ist nicht nötig, daß das Wasser länger als 24—48 Stunden im Faulraum verbleibt. Es muß dabei auch nicht notwendig in absoluter Ruhe verharren, sondern kann ganz allmählich durchfließen. Der Schlamm wird im Gegensatz zum Absitzbecken auf Monate hinaus nicht entfernt, da er vergasen und sich verflüssigen soll. Er darf schon deshalb nicht ohne weiteres entfernt werden, da er nach dem notwendigen Einarbeiten einer Faulkammer das neu zutretende Wasser und den neuen Schlamm immer wieder mit den für die Zersetzung der zugeführten Stoffe besonders in Betracht kommenden Organismen versehen muß.

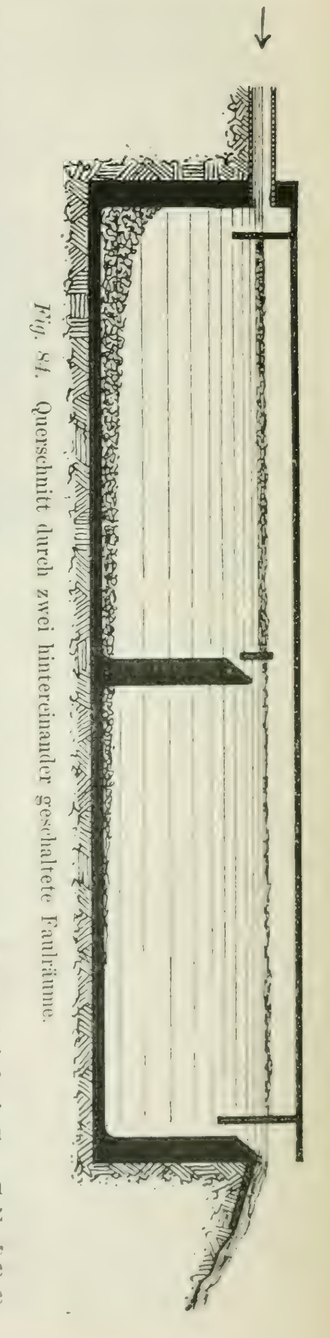


Fig. 84. Querschnitt durch zwei hintereinander geschaltete Faulräume.

Früher hatte man auf dieses Verfahren als Mittel zur Schlammbeseitigung seine ganz besonderen Hoffnungen gesetzt, da man glaubte, daß in den Faulbecken eine weitgehende Schlammverzehrung stattfinde und somit die

überall als Kalamität empfundene Schlammfrage für gelöst gelte. Indessen hat sich herausgestellt, daß gerade in dieser Beziehung die vorliegenden Tatsachen nur zu geringen Hoffnungen berechtigen. Nach einer Kritik von ROTH und BERTSCHINGER (1) hängt der mit Faulbecken erzielte Effekt sehr wesentlich von der Beschaffenheit des Rohwassers ab. Je verdünnter dasselbe ist, um so besser der Effekt in den Faulkammern. Das Rohabwasser liegt aber in der Regel nicht in so starker Verdünnung vor, wie hier gemeint ist.

Neben dem Schlamm erfahren natürlich auch die im Wasser gelösten Stoffe eine wesentliche Veränderung, doch findet nur bei sehr großer Verdünnung, die praktisch schwer zu erzielen sein dürfte, ein so weitgehendes Ausfaulen statt, daß man sagen kann, das Wasser sei bezüglich seiner Bestandteile genügend mineralisiert. Wegen der chemischen Analyse vgl. S. 395. Freien Sauerstoff wird man in Faulbecken kaum erwarten dürfen, ebensowenig Salpetersäure; doch mögen diese Substanzen bei stark verdünnten Rohjauchen, besonders wenn Regenwässer beigemischt sind, bisweilen nachweisbar sein. Die Produktion von Ammoniak und Kohlensäure kann ziemlich bedeutend sein. Außerdem finden sich natürlich Amine, Essigsäure und Buttersäure. Am meisten interessiert das spezielle Schicksal, welches der Schlamm in solchen Becken erfährt. Die Entwicklung von Gasen, wie Schwefelwasserstoff, Mercaptan, Methan, Wasserstoff, Stickstoff und Kohlensäure, aus demselben weist mit Sicherheit darauf hin, daß durch Mikroorganismen bedingte Zersetzungen stattfinden. Die genannten Gase sind Endprodukte von Gärungen der Eiweißstoffe sowie der Kohlenhydrate. Die näheren Einzelheiten über diese Umsetzungen mögen in den einschlägigen Kapiteln dieses Handbuches nachgelesen werden. Die entstehenden Gase sammeln sich häufig bis zu kopfgroßen Blasen unter der Schwimmdecke an und durchbrechen dieselbe bisweilen. Da verbrennliche Produkte unter ihnen sind, ist beim Hineinleuchten in überdeckte Fauträume die Gefahr einer Explosion häufig sehr groß.

Die in den Fauträumen vorkommenden Organismen sind im einzelnen noch wenig untersucht, doch können wir annehmen, daß sie zum größten Teil sich aus den auch sonst typischen Schmutzwasserorganismen rekrutieren, z. B. aus *Bacillus fluorescens*, Buttersäurebakterien, Schwefelbakterien u. a. m. Das stets vorhandene *Bacterium coli* greift besonders die Kohlenhydrate an (vgl. Bd. II, S. 105) und bildet neben Gasen aus ihnen Milchsäure, Essigsäure und Ameisensäure, die dann freilich durch das vorhandene Ammoniak neutralisiert werden, so daß es, wenn überhaupt, selten zu einer sauren Reaktion des im Faulraum enthaltenen Wassers kommt. Die Schwimmdecke besteht aus Pflanzenresten, Papier, Haaren und Fett, die alle durch Pilzmycelien miteinander dicht verbunden sind. Manche dieser Stoffe haben ein spezifisches Gewicht, welches größer ist als das des Wassers; sie würden deshalb am ehesten am Boden zu suchen sein, doch werden sie häufig durch die Fäulnisgase emporgehoben und verbleiben dann Bestandteile der Schwimmdecke, weil sie durch die vorhandenen Pilzmycelien an dieselbe gleichsam angenäht werden. Diese Pilzmycelien gehören den Gattungen *Mucor*, *Pilobolus*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Oidium* u. a. m. an; vgl. BANDMANN (1). Häufig genug zeigen sich auch größere Hutpilze, wie *Coprinus stercorarius* und *Stropharia*. Die Schwimmdecke nimmt wegen der dicht verflochteten Pilzhyphen eine lederartige Konsistenz an; sie wird schließlich bis fußdick, wobei dann die oberen Partien allmählich eine erdige Beschaffen-

heit gewinnen. Pathogene Keime werden durch das vorliegende Verfahren nicht mit Sicherheit abgetötet. Das Faulverfahren wird in praxi mit Vorliebe in Kombination mit Koksfilterkörpern verwendet, besonders da, wo die zum Beschicken der Filterkörper nötigen Abwassermengen erst angesammelt werden müssen. Es scheint aber, daß die vorherige Einleitung der stinkenden Fäulnis den durch die Filterkörper erzielten Effekt nicht nennenswert beeinflußt, wenigstens nicht bei Abwässern von mittlerer Konzentration. Zu denjenigen Autoren, welche diese Kombination zwischen Faulverfahren und Filterverfahren vorgenommen haben, gehören CAMERON und SCHWEDER. ALEXANDER MÜLLER hatte schon in den siebziger Jahren des vorigen Jahrhunderts den Vorschlag gemacht, Zuckerfabriksabwässer durch Einleiten von Fäulnisprozessen unter gleichzeitiger Erhöhung der Temperatur zu behandeln, doch ist dieses Verfahren bis heute noch wenig ausgebildet worden, wiewohl bei geeigneter Ueberwachung desselben nennenswerte Effekte wohl erzielt werden könnten.

§ 108. Mykologie der Zuckerfabriksabwässer.

Die unter dem Einfluß von Zuckerfabriksabwässern zur Entwicklung gelangenden Pilze beanspruchen ein ganz besonderes Interesse, da sie in außerordentlich großen Mengen aufzutreten pflegen. Es hängt diese oft beobachtete Ueppigkeit in der Entwicklung der Pilze mit der reichlichen Menge der produzierten Abwässer und mit deren beachtenswertem Gehalt an Nährstoffen zusammen.

Die deutschen Rübenzuckerfabriken gaben ursprünglich betreffs ihrer Abwässer wenig Anlaß zu Klagen, da anfänglich der Zucker durch Auspressen der Rüben gewonnen wurde, wobei nur geringe Mengen von Abfallstoffen, welche in die Flüsse gelangten, resultierten. Mit der Einführung des Diffusionsverfahrens dagegen war der Wasserbedarf ein größerer und damit auch der Abfluß von Abwasser in die Vorfluter, wobei noch die gesteigerte Produktion die Menge des verarbeiteten Rohmaterials vermehren half. Die Größe der produzierten Abwassermengen folgert sich leicht daraus, daß sich pro 1000 Meterzentner verarbeiteter Rüben etwa 1000—2000 cbm Abwasser pro 24 Stunden ergeben, so daß schon eine einzige Fabrik von mittlerer Größe ebensoviele organische Abfallstoffe liefern kann wie eine Stadt mit etwa 50000 Einwohnern.

Durch chemische Analysen sind die ungefähre Zusammensetzung der Gesamtabwässer sowie die Bestandteile der Zuckerrüben ermittelt worden. Danach beträgt der Abdampfrückstand pro Liter etwa 600 mg, der Gehalt an Zucker weniger als 5 mg, die Menge organischen Stickstoffs etwa 20 mg. Unter den organischen Substanzen finden sich, nach Rübenanalysen zu schließen, Albumosen, Peptone, Aminosäuren (Leucin, Tyrosin), Amide der Aminosäuren (Asparagin, Glutamin), Pflanzenbasen (Lecithine, Betain), Pektinstoffe, Buttersäure, Milchsäure, Bernsteinsäure, Aepfelsäure, Weinsäure, Citronensäure u. a. m.; vergl. RÜMPLER (1). Hieraus ergibt sich, daß Zuckerfabriksabwässer, als Nährlösung für Pilze betrachtet, ganz ähnlich wie städtische Abwässer sehr geringe Konzentration besitzen und gleichfalls gute Nährstoffe für Pilze enthalten, außer den genannten vor allem noch beachtenswerte Mengen von Phosphaten und Kalisalzen. Ein wesentlicher Unterschied zwischen diesen beiden Abwässern dürfte darin bestehen, daß der Gehalt an stickstofffreien organischen Substanzen bei

den Zuckerfabriksabwässern überwiegt, woraus sich ihre Neigung zu sauerer Gärung erklärt.

Der Zusammensetzung nach sind die Abwässer der Zuckerfabriken *viel einheitlicher* als die städtischen Abwässer, da sie ihre gelösten Stoffe fast ausschließlich aus den Rüben beziehen. Es können solche Abwässer im wesentlichen als sehr verdünnte Rübensäfte angesehen werden, denen fast die Gesamtmenge des Zuckers entzogen ist.

Andere Abwässer als die speziell aus den Rübensäften stammenden resultieren aus der Rübenschwemme und Rübenwäsche. Ein großer Teil des erforderlichen Wassers dient nämlich zugleich als Transportmittel für die Rüben, welche demnach in die Fabrik meistens nicht hineingefahren, sondern hineingespült werden. Dabei und bei der nachfolgenden eigentlichen Wäsche werden die Rüben von den anhaftenden Bodenteilen gesäubert, wobei gleichzeitig die Schwänze und andere dünne Wurzelteile vielfach abbrechen. Werden diese Schwänze nicht herausgefangen, so kann durch sie beim Einleiten der Abwässer im Verein mit den sich zersetzenden Erdpartikeln in der Vorflut die Erscheinung der Fäulnis im Schlamm hervorgerufen werden.

Das beste Verfahren zur Reinigung der Zuckerfabriksabwässer dürfte die Landberieselung sein, doch muß natürlich die Rieselfläche genügende Ausdehnung und günstige Bodenbeschaffenheit besitzen. Erschwerend bei dem Reinigungsprozeß kommt der Umstand hinzu, daß die Zuckerfabriken während der kalten Jahreszeit arbeiten, etwa vom Oktober bis Ende Januar. Wegen der Kältewirkung wird natürlich die Organismentätigkeit im Boden ziemlich beeinträchtigt, doch werden immerhin bei geeigneter Handhabung des Rieselverfahrens günstige Erfolge erzielt. Gewisse Verfahren, z. B. das von Proskowetz, suchen besonderen Effekt durch zweimalige Rieselung unter gleichzeitiger Verwendung von Kalk als Klärmittel zu erzielen. Dabei ist zu beachten, daß durch eine solche Klärung nicht etwa ein Absterben aller Organismen herbeigeführt werden und die Alkalescenz nicht soweit gesteigert werden darf, daß beim Aufleiten des Wassers auf das zweite Rieselfeld die in demselben vorhandenen Lebewesen getötet oder gelähmt werden, denn dann hätte man zwei Faktoren, welche die Reinigung durch Berieselung stören, nämlich die niedrige Temperatur und die laugenhafte Beschaffenheit des Abwassers. Ueberhaupt empfiehlt es sich, bei der Reinigung solcher Abwässer immer im Auge zu behalten, daß den reinigenden Organismen ihre Tätigkeit möglichst erleichtert werde. Ferner ist zu beachten, daß die Zuckerfabriksabwässer aus zwei Komponenten bestehen, einer Gärung verursachenden und einer Fäulnis produzierenden; vgl. Kolkwitz (1). Zuckerfabriksabwässer kann man je nach Wunsch spontan sauer oder alkalisch werden lassen. Die zuerst auftretende Säuerung wird im wesentlichen durch Milch- und Buttersäuregärung bedingt. Solange dieser Prozeß anhält, werden die Eiweißstoffe und deren komplizierte Abbauprodukte jedenfalls nur wenig angegriffen werden, da die auf intensive Verwertung solcher Nahrung angewiesenen Organismen keinen zu hohen Säuregrad vertragen. Ist der Prozeß der saueren Gärung aber beendet, oder werden die genannten Säuren durch dauernde Neutralisation, vielleicht auch durch Verdünnen der Abwässer mit reinem Wasser, unwirksam gemacht, so setzt der Abbau der hochmolekularen Stickstoffverbindungen ein, und erst damit beginnt die Möglichkeit für die Entwicklung der festsitzenden Wasserpilze. Diese kann aber wiederum dann nicht stattfinden, wenn

bei diesen Abbauprozessen die Reaktion kräftig in das andere Extrem umschlägt, also reichliche Mengen alkalischer Substanzen entstehen.

Dunbar und Thumm (1) haben die interessante Frage untersucht, ob Zuckerfabriksabwässer auch der Reinigung durch Koks- oder Schlacken-5 filtration zugänglich sind, und kommen zu einem positiven Resultat. Das erzielte Produkt wies den spezifischen Rübengeruch nicht mehr auf und fiel beim Stehen an der Luft nicht mehr der stinkenden, mit Schwefelwasserstoffbildung einhergehenden Fäulnis anheim. Inwieweit sich dieses Verfahren in der Praxis wird anwenden lassen, ist zurzeit noch 10 nicht zu sagen, da die enorme Menge der produzierten Abwässer unter Umständen so große Anlagen erfordern könnte, daß die Kosten derselben zu erheblich würden. Nähere Ausführungen über Zusammensetzung, Schädlichkeit und sonstige Reinigungsverfahren der Zuckerfabriksabwässer finden sich bei König (1).

15 Im allgemeinen werden in praxi die Zuckerfabriksabwässer nicht besonders gut gereinigt, weshalb wir in den Vorflutern vielfach Pilzwucherungen und Kalamitäten durch Sauerstoffzehrung auftreten sehen. Man vergleiche bezüglich dieses Punktes die Arbeiten von Schiemenz (1).

Nach den Arbeiten von Cohn (1 u. 2) verursachen besonders die 20 im Abwasser, wenn auch in geringer Menge vorhandenen Kohlenhydrate das Wachstum der Pilze, speziell des *Leptomitus*, wobei Cohn darauf hinwies, daß dieser Pilz in den Abwässern von Städten nicht vorkommt. Diese Annahme, daß *Leptomitus* für Zuckerfabriksabwässer spezifisch sei, war aber irrig, da *Leptomitus* sehr wohl auch in Vorflutern vorkommen 25 kann, welche städtische fäulnisfähige Abwässer aufnehmen. Zudem ist durch die Untersuchungen von Kolkwitz (1) experimentell nachgewiesen worden, daß *Leptomitus* zu seiner Entwicklung Zucker überhaupt nicht nötig hat, wohl aber hochmolekulare Stickstoffverbindungen, d. h. Eiweißstoffe und diesen mehr oder weniger nahestehende Verbindungen. Hier-30 aus wieder folgt, daß bei Reinigung von Zuckerfabriksabwässern vor allem auf Beseitigung der stickstoffhaltigen fäulnisfähigen Stoffe gesehen werden muß.

Die Untersuchungen von Cohn haben seinerzeit die wichtige Tatsache ergeben, daß ein Charakteristikum der Zuckerfabriksabwässer in 35 dem Auftreten von Buttersäure und geringer Spuren von Milchsäure zu suchen ist. Es gelang Cohn auch, den Erreger der Buttersäuregärung in den sich zersetzenden Abwässern zu finden, sowie eine große Reihe anderer Organismen, z. B. *Ascococcus sarcinoides*, *Sarcina*, *Bacillus subtilis*, Mikrokokken, Spirillen, Vibrionen, *Fusarium*, *Mucor*, *Saccharomyces*, *Peziza*, 40 *Aspergillus* u. a. m. „Es hat sich herausgestellt,“ sagt Cohn (2), „daß in Abwässern der Zuckerfabriken die Buttersäurebazillen sich in unendlicher Menge vermehren, das Wasser erfüllen, an der Oberfläche sich in Schleimflocken oder Schleimhäuten ansammeln, später aber Sporen bilden und dann absterben, während die Sporen sich zu Boden senken und 45 diesen mit einem unendlich feinen weißen Sporenpulver bedecken.“ Ueber die Bakterien im Fabriksbetriebe, die sicher zum Teil mit in die Abwässer gelangen, vergleiche man das 24. Kapitel des II. Bandes und Schöne (1). Weitere Angaben über die in den Abwässern und gereinigten Wässern vorhandenen Organismen findet man u. a. in den „Berichten (1) 50 der staatlichen Kommission zur Prüfung der Reinigungsverfahren von Zuckerfabriksabwässern“ für die Jahre 1901—1904. Cohn beschreibt weiter sehr richtig das Auftreten verschiedener Algen beim Einleiten der Abwässer in die Vorflut und dem sich dann abspielenden Selbstreinigungs-



Erklärung der Abbildungen.

Habitus-Bilder von Abwasserpilzen.

Fig. **A.** *Mucor.* Fellartiger Ueberzug aus dem Bett eines verschmutzten Baches. — Natürl. Größe.

Fig. **B.** *Fusarium.* Mikrophotographische Aufnahme eines verzweigten Mycelstückes. — Vergr. 30.

Fig. **C.** *Sphaerotilus*, als flaumfederartiger Besatz ein Schilfblatt überziehend. — Natürl. Größe.

Fig. **D.** *Fusarium.* Makroskopisches Habitusbild. Der Pilz sitzt auf einer Weidenwurzel fest. — Natürl. Größe.



Kolkwitz phot.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Reproduktion von J. B. Obernetter, München.



prozeß. Er wies auch im Jahre 1887 darauf hin, daß durch zu starkes Kalken der Abwässer diese an der Einmündungsstelle wegen der desinfizierenden Wirkung des Aetzkalkes zunächst keine Fäulnis hervorrufen, wohl aber nach 5—7 km langem Lauf, auf dem eine Neutralisation des Aetzkalkes durch die Kohlensäure des Wassers eintritt. Weitere 5 Einzelheiten über die Arbeiten COHN's können bei KÖNIG (1) nachgelesen werden.

§ 109. Beschreibung der wichtigsten Abwasserpilze.

Die wichtigsten und am öftesten für die Beurteilung von Verschmutzungen in Vorflutern genannten Abwasserpilze sind nach unseren 10 jetzigen Kenntnissen *Sphaerotilus*, *Leptomitus*, *Mucor*, *Fusarium* und *Beggiatoa*. Nach meinen neueren Erfahrungen kommen aber auch bisher nicht beschriebene gleichfalls in großen Beständen vor.

Sphaerotilus gehört zu den mit Scheide versehenen Fadenbakterien (Chlamydobakterien; vgl. Bd. I, S. 145) und ist in Deutschland der häufigste 15 von allen Abwasserpilzen. Er findet sich oft in großen Mengen an solchen Stellen, wo fäulnisfähige organische Abwässer in eine Vorflut gelangt sind; dabei brauchen diese Abwässer aber noch nicht in stinkende Zersetzung übergegangen zu sein, da wohl anzunehmen ist, daß *Sphaerotilus* sich hauptsächlich von hochmolekularen Stickstoffverbindungen er- 20 nährt, welche gerade die noch frischen Abwässer der Vorflut zuführen. Der Bedarf des *Sphaerotilus* an ernährender Substanz scheint nicht unerheblich zu sein, da er an ziemlich stark verunreinigten Stellen auftritt, während weiter abwärts im Wasserlauf, an Stellen also, wo die Selbstreinigung schon weiter fortgeschritten ist, *Leptomitus* sich zu entwickeln 25 pflegt. Der Pilz gedeiht nur in fließendem Wasser, im wesentlichen wohl wegen des zu seinem raschen Wachstum benötigten Sauerstoffs. Die Figur *C* auf *Tafel X* zeigt uns ein untergetauchtes Schilfblatt in natürlicher Größe, welches mit den fellartigen Flocken des *Sphaerotilus* besetzt ist. In vielen Fällen ist es nicht möglich, mit bloßem Auge zu 30 entscheiden, ob hier *Sphaerotilus*, *Leptomitus*, *Fusarium* oder *Mucor* vorliegt. Wenn auch die übrigen Habitusbilder, welche auf der *Tafel X* dargestellt sind, von der Figur des *Sphaerotilus* erheblich abweichen, so ist damit nicht gesagt, daß solche Abweichungen immer vorhanden sein müssen. Oft genug ist auch zu beobachten, daß diese Pilze 35 zu zweien gemischt miteinander vorkommen; dann ist natürlich eine makroskopische Bestimmung völlig ausgeschlossen. Mikroskopisch erscheint der Pilz in der Form von mehr oder weniger parallel gerichteten, unverzweigten und unbeweglichen Fäden von nur einigen Mikron (μ) Dicke. Die einzelnen Fäden bestehen aus aneinandergereihten Zellen, 40 deren jede im vegetativen Zustand vor der Teilung etwa dreimal so lang als breit zu sein pflegt. Der Inhalt der einzelnen Zellen ist im allgemeinen farblos und zeigt nur unter besonderen Wachstumsbedingungen auffälligere Inhaltsgebilde (z. B. Fett). Die einzelnen Zellen sind von einer mehr oder weniger dünnen Scheide umschlossen, welche aber ohne 45 Vorbehandlung mit Farbstoffen meist nicht ohne weiteres sichtbar ist, außer nach Erschöpfen und Absterben des Pilzes.

Der Pilz ***Cladothrix dichotoma*** ist dem *Sphaerotilus* sehr ähnlich, doch tritt er nicht in so charakteristischen Mengen auf, zeigt auch außerdem die bekannte dichotomische Verzweigung. Es scheint, daß 50

Sphaerotilus natans und *Cladothrix dichotoma* identisch sind und *Cladothrix* nur eine in geringerer Menge und an reineren Stellen vorkommende Entwicklungsform von *Sphaerotilus* ist. *Cladothrix dichotoma* heißt bei MIGULA *Sphaerotilus dichotomus.* Wenn die obige sehr wahrscheinliche An-5 nahme zutrifft, gilt die für *Cladothrix* beschriebene Form der Fortpflanzung durch Schwärmsporen (s. Bd. I, S. 126) auch ohne weiteres für *Sphaerotilus.*

Weiter ist in der Literatur wiederholt der charakteristische Pilz ***Zoogloea ramigera*** beschrieben worden. Auch diese Gattung dürfte, wie bereits ZOPF (1), allerdings im Widerspruch zu WINO-10 GRADSKY (1), ausführte, eine Standortsform von *Sphaerotilus* oder *Cladothrix* sein und zwar an solchen Stellen, wo die Verschmutzung durch organische Substanzen besonders ausgiebig ist. Diese *Zoogloea*

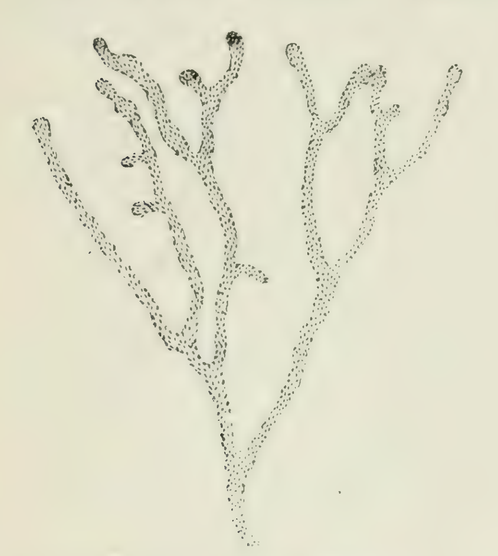


Fig. 85. Zoogloea ramigera.
Baumartige Form. — Vergr. 980. Nach ZOPF.



Fig. 86. Zoogloea ramigera.
Kompakte klumpige Form.
Vergr. 250. Nach ZOPF.

sieht unter dem Mikroskop wie ein mehr oder weniger verzweigtes Geweih aus (s. *Fig. 85*), welches nicht bloß durch einen Faden 15 dargestellt wird, sondern durch eine kompaktere Masse, welche dadurch entstanden ist, daß die Zellen sich in einem gemeinsamen Schleime durch Verschiebung zu mehreren nebeneinander gelagert haben. Die einzelnen Zellen pflegen kokken- oder kurzstäbchenartig zu sein. Häufig genug beobachtet man, daß diese geweihartige *Zoogloea* mit einer 20 einzelnen Fadenreihe aufsitzt, sich also allmählich in diese verjüngt und somit im unteren Teile sich unverkennbar als *Sphaerotilus* erweist. Diese *Zoogloea* kommt auch in einer mehr keulig und klumpig kompakten Form (*Fig. 86*) vor, und zwar an besonders stark verunreinigten Stellen.

Von *Sphaerotilus* sind mehrere Arten unterschieden worden, von 25 denen *Sph. natans* die bei weitem verbreitetste ist. Neben ihr findet sich häufig noch *Sphaerotilus roseus*, der an ähnlichen Stellen vorkommt wie *Sph. natans*, aber schon dem bloßen Auge durch seine hellrosenrote Färbung auffällt. Dieser Pilz ist zuerst von ZOPF (1) beschrieben und näher untersucht worden; die Fäden besitzen eine Breite von nur 0,7—1 μ.

Es gibt nach meinen eigenen Erfahrungen indessen auch einen rotgefärbten *Sphaerotilus*, welcher etwa doppelt so dick ist als *Sph. natans* und auch ziemlich große Verbreitung besitzt. *Sphaerotilus* findet sich in städtischen Abwässern, Zuckerfabriksabwässern, Abwässern aus Stärkefabriken, Brennereien, Brauereien, Cellulosefabriken u. a. m. Von Literatur über diesen Pilz sei angeführt: Zopf (1 u. 2), Winogradsky (1), Büsgen (1), Höflich (1), Schikorra (1), Mez (1), Kolkwitz (1), Marsson (1).

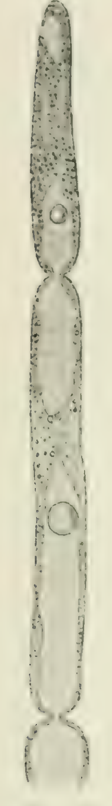


Fig. 87. *Leptomitus lacteus.* Endglieder eines Fadens. Vergr. 380.

Leptomitus ist von Kolkwitz (1) ausführlich beschrieben und untersucht worden. Er besteht aus verzweigten 16—20 μ dicken Fäden, welche keine Querwände besitzen, sondern nur von Zeit zu Zeit, wie die *Fig. 87* zeigt, eingeschnürt sind. Es gibt keinen zweiten Pilz, der diese Eigentümlichkeit als konstantes Merkmal in gleich charakteristischer Weise zeigt. In jedem durch je zwei Abschnürungen gebildeten Fadenglied liegt eine Kugel, welche aus einer celluloseartigen Substanz (Cellulin, vgl. Bd. I, S. 156) besteht und bei Verletzungen des Fadens als Verschlußventil an den Einschnürungen dient. Die Fortpflanzung des Pilzes geschieht oft dadurch, daß die Pilzmassen durch die mechanische Bewegung des Wassers zerrissen werden und die abgerissenen Teile nach Festsetzen an einer anderen Stelle weiter wachsen. Eine andere sehr häufig zu beobachtende Form der Fortpflanzung ist die Bildung von Schwärmsporen in Sporangien (s. *Fig. 88*). Die Schwärmsporen treten aus einer Oeffnung des Sporangiums heraus, setzen sich nach kurzem Umherschwärmen fest und wachsen zu Keimpflänzchen aus, welche sich sehr bald wieder zu größeren Polstern von verzweigten Fäden heranbilden können. Während bei den mit *Leptomitus* verwandten Gattungen *Saprolegnia* und *Achlya* geschlechtliche Fortpflanzung (vgl. Bd. I, S. 204—205) stattfindet, die zur Bildung von Dauereiern (Oosphaeren) führt, ist diese Art der Fortpflanzung bei *Leptomitus* bisher nicht beobachtet worden und dürfte voraussichtlich auch nicht vorkommen. Zum Ueberdauern ungünstiger Perioden kommt dem Pilz die Resistenz seines vegetativen Mycels zustatten, sowie die gelegentliche Bildung von Gemmen. Wie sich durch Reinkulturen nachweisen ließ, bedarf der Pilz zu seiner Ernährung nicht des Zuckers, wohl aber hochmolekularer Stickstoffverbindungen. Die Praktiker pflegen *Leptomitus* (und oft auch *Sphaerotilus*) mit Zuckeralge zu bezeichnen, doch wird er richtiger zu den Pilzen gerechnet; der Bezeichnung Pilzalge läßt sich dagegen die Berechtigung nicht absprechen. Es gibt wahrscheinlich nur eine Art von *Leptomitus* und zwar *L. lacteus*. Sollte noch die eine oder andere wirklich typische Species vorkommen, so hat diese bei uns jedenfalls nur geringe Verbreitung.

Wie das Habitusbild in *Fig. A* auf *Taf. X* lehrt, kommen auch von **Mucor** ziemlich ausgedehnte Bestände vor und zwar ebenfalls in Wässern mit fäulnisfähigen Substanzen. Die mehr oder weniger ver-

zweigten Fäden von *Mucor* haben ebenso wie diejenigen von *Leptomitus* einen ziemlich ansehnlichen Durchmesser und ermangeln meist der Querwände, haben also schlauchförmige Gestalt. Wie in der Literatur längst bekannt ist, können aber auch Querwände in ziemlich erheblichen Mengen 5 auftreten, so daß nicht immer ohne weiteres die Diagnose auf *Mucor*

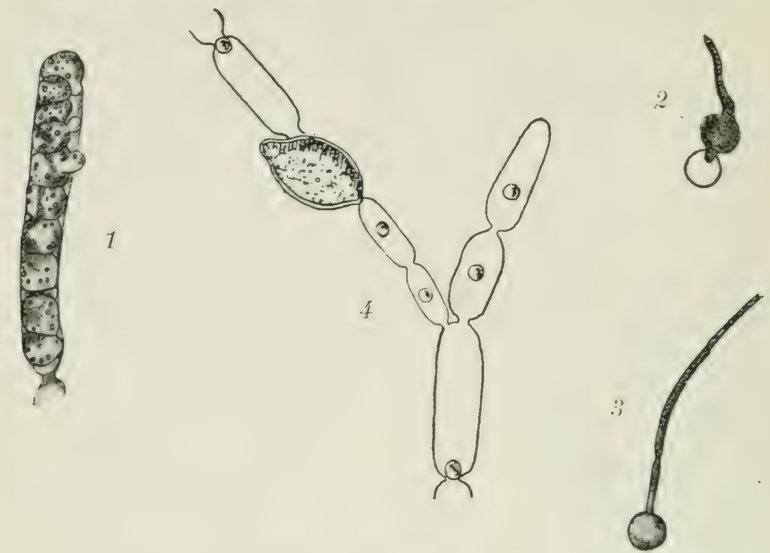


Fig. 88. Leptomitus lacteus.
1 Reifes Sporangium. Vergr. 460. — *2* Auskeimen der Schwärmspore nach Häutung. Vergr. 420. — *3* Direkte Keimung ohne Häutung., Vergr. 426. — *4* Faden mit Gemme. Vergr. 450. — Nach Kolkwitz.

gestellt werden kann. In zweifelhaften Fällen läßt sich indessen durch künstliche Kultur die Identität des Pilzes und auch die Species oft leicht feststellen. Nach meinen Erfahrungen handelt es sich oft um *Mucor racemosus* und um Vertreter aus der *Zygorhynchus*-Gruppe. Wegen näherer 10 Einzelheiten betreffs der Morphologie und Physiologie der Gattung *Mucor* sei auf das 21. und 22. Kapitel des IV. Bandes verwiesen. Die Mucorineen der Abwässer sind bisher im Zusammenhang nicht bearbeitet worden.

Von ***Fusarium*** (synonym damit: *Selenosporium*, *Fusisporium*, *Cucurbitaria*, *Nectria*) ist in *Fig. D* der *Tafel X* ein Habitusbild in natür-15 licher Größe gegeben. Dazu mag wieder wie bei Besprechung der vorhergehenden Pilze betont werden, daß hier nur ein besonderes Beispiel dargestellt ist, der Pilz aber sonst auch in ähnlichen Formen wie die anderen auftreten kann. Das in *Fig. B* der *Tafel X* wiedergegebene mikroskopische Habitusbild ist einigermaßen durch die Art der Verzweigung 20 charakterisiert, welche dem Bilde ein federartiges Gepräge gibt: doch kommen auch hier erhebliche Abweichungen vor, z. B. ein oidiumartiger Zerfall der Fäden. Im Zweifelsfalle ist *Fusarium* auf Kartoffel in Kultur zu nehmen und die eventuelle Bildung der in *Fig. 89* dargestellten, charakteristischen sichelförmigen Sporen abzuwarten. Die Länge dieser 25 Sporen pflegt etwa 30 μ, die Dicke etwa 4 μ zu betragen. Die Gattung *Fusarium* wurde durch Radlkofer (1) im Winter 1862/63 in der Wasserleitung von München beobachtet und unter dem Artennamen *F. aquae-*

ductuum beschrieben. Der Teil der Wasserleitung, in welchem dieser Autor den Pilz fand, war aber außer Betrieb und wahrscheinlich durch Brennereiabwässer verunreinigt. Nach allen sonstigen Untersuchungen ist *Fusarium* ein Abwasser- und kein Trinkwasserpilz, wie überhaupt in normalen Trinkwässern ausgesprochene Wasserfadenpilze in größerer Menge (mit selbstverständlicher Ausnahme von *Crenothrix*) nicht vorkommen. Weitere Standorte von Fusarien sind Baumflüsse, d. h. verletzte Stellen an Bäumen, aus denen der Saft heraustritt, der Ackerboden (*Fusarium nivale*, Schneepilz) und gelegentlich das freie Wasser, wo zufolge LUDWIG (1) eigentümliche wenigzellige Bestandteile von *Fusarium* als Plankton vorkommen können. Es dürfte nicht zu bezweifeln sein, daß es sich hier nur um einen erratischen Planktonorganismus handelt, der von verunreinigten Stellen des benachbarten Ufergeländes in das freie Wasser hineingespült worden ist. Fusariumsporen können eine rötliche Farbe annehmen; auch werden von Fusarien vielfach kirschrote Farbstoffe erzeugt, welche in das Kultursubstrat hineindiffundieren können. Oftmals wird bei *Fusarium* ein intensiver Moschusgeruch wahrgenommen, der imstande ist, denjenigen, der sich längere Zeit in der Nähe von Pilzanhäufungen dieser Art aufhält, zu betäuben. Wegen dieses Geruches ist der Pilz auch mit dem Artennamen *moschatum* bezeichnet worden, doch dürften die Arten *F. aquaeductuum* und *F. moschatum* identisch sein. *Fusarium solani* wird mit diesen beiden bisweilen verwechselt worden sein. Im übrigen gibt es auch Fusarien im Wasser, welche nicht nach Moschus riechen, auch nicht in der Kultur. Es wird sich deshalb, solange die einzelnen Arten des Wassers nicht näher beschrieben sind, zunächst empfehlen, bei dem Vorkommen von *Fusarium* nur den Gattungsnamen anzugeben. *Fusarium* scheint besonders sauerstoffempfindlich zu sein, denn es findet sich mit Vorliebe an Wehren, über welche das Wasser herabstürzt. Solche Wehre können durch Ueberzug mit *Fusarium* häufig eine intensiv ziegelrote Farbe annehmen. *Fusarium* ist nach den vorliegenden Untersuchungen die Konidienform der Ascomycetengattung *Nectria* (vgl. Bd. I, S. 212). Der Pilz müßte deshalb eigentlich *Nectria* genannt werden, doch ist die Bezeichnung *Fusarium* in der Literatur so verbreitet, daß es zweckmäßig ist, in der technischen Mykologie die Bezeichnung beizubehalten, zumal im Wasser, soweit mir bekannt, die Ascusform noch nicht gefunden worden ist. Doch ist nicht ausgeschlossen, daß sie hier noch entdeckt wird, da typische Ascomyceten mit reifen Früchten im Wasser beobachtet worden sind: vgl. LINDAU (1) und REHM (1). Weitere Angaben über diesen Pilz findet man bei RADLKOFER (1), EYFERTH (1), KITASATO (1), HELLER (1), G. VON LAGERHEIM (1), LUDWIG (1), GLÜCK (1) und SCHORLER (1).

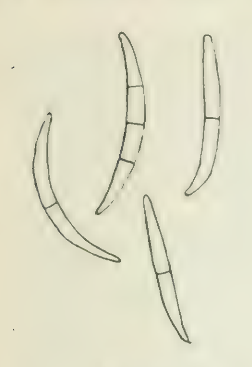


Fig. 89.
Sporen von *Fusarium*.
Vergr. 500.

Der Pilz ***Beggiatoa*** ist bezüglich seiner Ernährungsphysiologie und Morphologie im 8. Kapitel dieses Bandes näher beschrieben worden. Dort findet sich der Beweis für die allbekannte Tatsache, daß *Beggiatoa* zu seinem Gedeihen des Schwefelwasserstoffes zwecks Oxydation bedarf. Der Pilz findet sich also einmal an solchen Stellen, wo bei der Zersetzung von Proteinkörpern oder der Reduktion von Gips durch Mikrobien

Schwefelwasserstoff entsteht, andererseits aber auch in Schwefelquellen, welche den Schwefelwasserstoff aus dem Innern der Erde beziehen. Werden fäulnisfähige Abwässer in eine Vorflut geleitet und entsteht dort, besonders durch Zersetzungen im Schlamm, Schwefelwasserstoff, so wird sich häufig *Beggiatoa* entwickeln. Die Fäden sind beweglich und verweben sich zu einem feinen Schleier, der die Oberfläche des faulenden Schlammes als weiße, spinnwebenartige Masse überzieht und an vielen Stellen durchlöchert ist, da ständig Sumpfgasblasen aus dem darunter liegenden Schlamm hervorbrechen. Das makroskopische Habitusbild eines solchen Schleiers ist in *Fig. 90* dargestellt. Der in dieser letztgenannten gewählte schwarze Untergrund pflegt auch in der freien Natur charakteristisch zu sein, da der Schlamm durch Bildung von Schwefeleisen häufig tintenschwarze Farbe annimmt. Es ist selbstverständlich, daß ein solches Wasser, in welchem derartige *Beggiatoa*-Schleier den Schlamm überziehen, nicht zu schnell fließen darf, da sonst der lockere Schleier fortgespült würde. Man unterscheidet im allgemeinen im Süßwasser drei Arten von *Beggiatoa*, nämlich *B. arachnoidea* (5—7 μ breit), *B. alba* (3—4 μ breit) und *B. leptomitiformis* (1,5—2,5 μ breit). Alle drei unterscheiden sich im wesentlichen durch die Dicke, so daß vielleicht nicht drei verschiedene echte Arten sondern nur drei Ernährungsformen, bedingt durch die wechselnde chemische Beschaffenheit des Standorts, vorliegen dürften. Wegen des Vorkommens der Beggiatoen in städtischen Rohabwässern vergleiche Seite 396. Dort ist auch das Nähere über die roten Schwefelbakterien *Lamprocystis* und *Chromatium* gesagt.



Fig. 90. Bestand von *Beggiatoa*, schwefeleisenhaltigen Schlamm schleierartig überziehend. — Nat. Gr. Nach ENGLER.

Literatur

zum Kapitel Mykologie und Reinigung der städtischen und der Zuckerfabriks-Abwässer.

*Adametz, L., (1) Ref. im Centralbl. f. Bakt., 1887, Bd. 1, S. 8. *Appel und Buchner, (1) Zeitschr. f. Gewässerkunde, 1899, S. 82. *Bandmann, (1) 72. Jahresb. d. schles. Ges. f. vaterl. Kultur, 1894. *Barwise, (1) The bacterial purification of sewage. London 1901. *Berichte über die Arbeiten d. staatl. Komm. z. Prüfung d. Reinigungsverfahren von Zuckerfabrikabwässern während der Campagnen 1899—1904. *Bredtschneider und Thumm, (1) Mitt. a. d. Kgl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgg. u. Abwässerbeseitigung zu Berlin, 1904, Heft 3. *Büsgen, (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1894, Bd. 12, S. 147. *Cohn, Ferd., (1) Gutachten ü. d. Abwässer verschiedener Zuckerfabriken im Winter 1881. — (2) Gutachten ü. d. Abwässer verschiedener Zuckerfabriken, erstattet auf Grund mikroskopischer Untersuchungen im Winter 1884/85. *Dibdin, (1) The purification of sewage and water, 3. Aufl. 1903. *Dünkelberg, (1) Die Technik der Reinigung städtischer u. industrieller Abwässer durch Berieselung und Filtration, 1900. *Dunbar und Thumm, (1) Beitrag z. derzeitigen Stande der Abwasser-

reinigungsfrage. 1902. ***Dunbar** und **Zirn,** (1) Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Medizin u. öffentl. Sanitätswesen, 1898, 3. Folge, Bd. 16, Supplement, S. 137. ***Engler,** Ad., (1) Vierter Bericht der Kommission z. wissenschaftl. Untersuchung d. deutschen Meere in Kiel 1878–1881. Berlin 1884, S. 185. ***Eyferth,** (1) Bot. Ztg., 1882, Bd. 40, S. 691. ***Fischer,** Alfred, (1) Vorlesungen ü. Bakterien. 2. Aufl. 1903. ***Fischer,** Ferd., (1) Das Wasser. 3. Aufl. 1902. ***Fränkel,** Carl, (1) Z. f. Hyg., 1887, Bd. 2, S. 521. ***Gerson, Vogel** und **Weyl,** (1) Die Rieselfelder in Weyls Handbuch d. Hygiene. 1897. Bd. 2, ***Glück,** Hugo, (1) Englers Botan. Jahrbücher, 1902, Bd. 31, S. 495. ***Heller,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1889, Bd. 6, S. 97. ***Höflich,** (1) Oesterr. Monatsschrift f. Tierheilkunde, 1901, Bd. 26, S. 19. ***Kitasato,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1889, Bd. 5, S. 365. ***Kolkwitz,** (1) Mitt. a. d. Kgl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgg. u. Abwässerbeseitigg., 1903, Heft 2, S. 34, und Zeitschr. d. Ver. d. Deutschen Zucker-Industrie, 1904, S. 955. ***Kolkwitz** und **Marsson,** (1) Mitt. a. d. Kgl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgg. u. Abwasserbeseitigg. zu Berlin, 1902, Heft 1, S. 33. ***König,** (1) Die Verunreinigung der Gewässer. 1899. ***Lagerheim,** G. **von,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. 9, S. 655. ***Liborius,** (1) Z. f. Hyg., 1887, Bd. 2, S. 15. ***Lindau,** G., (1) Festschrift zu P. Aschersons siebzigstem Geburtstag. Berlin 1904, S. 482. ***London County Council,** (1) Vier Reports (1898—1902). ***Ludwig,** (1) Forschungsber. d. Biolog. Station zu Plön. 1899, Teil 7, Nr. 7. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. 10, S. 214. ***Manchester,** (1) Reports. 1899—1903. ***Marsson,** (1) Mitt. a. d. Kgl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgg. u. Abwässerbeseitigg. zu Berlin, 1904, Heft 4, S. 125. ***Matzuschita,** (1) Arch. f. Hyg., 1902, Bd. 41, S. 211. ***Mayer,** Ad., (1) Lehrbuch d. Agrikulturchemie, 5. Aufl., 1901 bis 1902. ***Mez,** (1) Mikroskopische Wasseranalyse. 1898. ***Migula,** W., (1) System der Bakterien. 1897. ***Miquel** und **Cambier,** (1) Traité de Bactériologie. 1902. ***Radlkofer,** (1) Kunst- u. Gewerbeblatt des polytechn. Vereins f. d. Königreich Bayern, 1863, Januarheft. ***Rehm,** (1) Mitt. d. Bayer. Bot. Ges., 1905, Nr. 34, S. 423. ***Rideal,** (1) Sewage and the bacterial purification of sewage. 1901. ***Roth** und **Bertschinger,** (1) Correspondenzblatt f. Schweizer Aerzte, 1900, 30. Jahrg., S. 729. ***Royal Commission** on Rivers Pollution, (1) Sechs Reports von 1868—1874. ***Royal Commission** on Sewage Disposal, (1) Vier Reports von 1901—1904. ***Rubner,** (1) Lehrb. d. Hyg., 7. Aufl., 1903. ***Rümpler,** (1) Die Nichtzuckerstoffe der Rüben. 1898. ***Schiemenz,** (1) Zeitschr. f. Fischerei, 1901—1903. ***Schikorra,** (1) Zeitschr. f. Fischerei, 1899, Bd. 7, S. 19. ***Schöne,** (1) Zeitschr. d. Vereins d. Deutschen Zucker-Industrie, 1901, S. 453; 1904, S. 1060. ***Schorler,** (1) Abh. d. naturw. Ges. Isis in Dresden, 1903, Heft 1. ***Schreiber,** Karl, (1) Arch. f. Hyg., 1902, Bd. 41, S. 328. ***Schultz-Schultzenstein,** (1) Mitt. a. d. Kgl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgg. u. Abwässerbeseitigg. zu Berlin, 1902, Heft 2. ***Thumm,** K., (1) Mitt. d. Deutsch. Landwirtschafts-Ges., 1905, Stück 23. ***Weyl,** (1) Handbuch d. Hyg., 1897, Bd. 2. ***Winogradsky,** S., (1) Zur Morphologie u. Physiologie d. Schwefelbakterien. Leipzig 1888. ***Wollny,** (1) Die Zersetzung d. organ. Stoffe und die Humusbildungen. 1897. ***Zopf,** (1) Zur Morphologie der Spaltpflanzen. 1882. — (2) Beiträge z. Physiol. u. Morph. niederer Organismen. Leipzig 1892, Heft 2.

Fünfter Abschnitt.

Mykologie des Düngers und des Bodens.

Von Prof. Dr. J. Behrens.

(Manuskript-Einlauf: 16. Mai 1906.)

16. Kapitel.

Mykologie des Düngers.

§ 110. Bestandteile des Düngers.

Wenn wir in vorliegendem Kapitel von Dünger reden, so verstehen wir darunter das Gemenge der festen und flüssigen Exkremente der Haustiere, z. T. auch des Menschen, mit Streumaterialien (Stroh, Torfmull u. dergl.), das von alters her in erster Linie zum Düngen des Ackers benutzt wurde. Der Zweck der Düngung mit Stallmist ist ein doppelter: Einmal sollen durch dieselbe dem Boden die Mengen von Stickstoff und Aschenbestandteilen wieder zugeführt werden, welche ihm in den Ernten entzogen worden sind, und ferner soll durch das Einbringen der organischen Substanz der Boden physikalisch verbessert, melioriert werden. Es ist eine bekannte Tatsache, daß im allgemeinen der frische Stalldünger keineswegs ein beliebtes Düngemittel ist, daß man vielmehr den einige Zeit gelagerten und dabei „verrotteten" Stallmist vorzuziehen pflegt. Der in seinen Einzelheiten übrigens noch wenig bekannte Vorgang der Verrottung, der entweder auf dem Misthaufen oder, im Tiefstall, unter den Füßen der Tiere, jedenfalls in dem in großer Menge aufgeschichteten Dünger vor sich geht, ist, wie wir heute wissen, in seinem Verlauf durchaus von der Entwicklung von Mikroorganismen, Bakterien und Schimmelpilzen, abhängig, welche die einzelnen Bestandteile des Düngers zersetzen und verändern.

Von den Bestandteilen des Düngers, Fäces, Streu und Harn, ist nur der letztere beim Verlassen des Tierkörpers in normalen Fällen fast keimfrei, jedenfalls keimarm. Um so reicher an Organismen im ruhenden wie im wachsenden Zustande sind die beiden anderen Bestandteile, insbesondere die Fäces. Die Zählungen, die allerdings fast ausschließlich im

unmittelbaren Interesse der menschlichen Hygiene, also an menschlichen Exkrementen, vorgenommen worden sind, führen sogar zu dem Schluß, daß ein großer Teil der Fäkalien aus den toten und lebenden Leibern von Organismen besteht. Die zuerst benutzten Zählmethoden mit Hilfe von Plattenkulturen (Gelatine, Agar) ergeben naturgemäß zu niedere Resultate, da die Anaeroben sowie alle auf dem benutzten Nährmedium nicht gedeihenden Formen der Zählung entgehen, und da auch von den entwicklungsfähigen die große Mehrzahl auf den Platten aus den verschiedensten Gründen (vgl. Bd. I, Kap. 16, § 96, und Kap. 22) ausbleibt. Als Klein (1) mit Hilfe seiner direkten Zählmethode die Menge der Bakterien im menschlichen Kot zu ermitteln suchte, kam er zu Werten, welche im Mittel 90-mal so hoch waren wie die nach der Kulturmethode gefundenen. Nach ihm bestehen 1.36—11.27 Proz. des Kots aus Bakterienleibern, von denen aber nur 1.1 Proz. lebendig sein sollen. Strassburger (1) und Ermann (1), die die Bakterien aus dem Kot durch Behandlung mit Säure und Zentrifugieren trennten und dann wogen, kamen zu noch höheren Werten. Nach ersterem besteht im Durchschnitt ca. ein Drittel der Trockensubstanz des Kotes aus Bakterien, schwankend zwischen 17.2 und 68.4 Proz. Ermann fand 3.95—42.9 Proz. Unter der Annahme, daß es sich nur um *Coli*-Bazillen, die ja (s. S. 94) weit vorwalten, handelt, indem er also deren Maßverhältnisse (2 zu 0.5 μ) sowie das von Rubner für *Bac. prodigiosus* angegebene spezifische Gewicht (1.054) zugrunde legt, berechnet Strassburger den mittleren Gehalt der täglichen Kotabscheidung eines Menschen an Bakterien auf 128 Billionen gegenüber 99 Milliarden nach der Kultur- und 8800 Milliarden nach der Zählmethode; 1 mg feuchten (frischen) Kotes würde nach Strassburger 2410 Millionen Bakterien enthalten. Weitere Literatur über den Bakteriengehalt des menschlichen Kotes findet man außer in den genannten Arbeiten bei Matzuschita (1).

Ueber den Bakteriengehalt des Kotes unserer Haustiere liegen nur einige Angaben von Wüthrich und E. von Freudenreich (1) vor, die sich überdies nur auf den Kuhkot beziehen. Nach den mit Hilfe der Kulturmethode ausgeführten Untersuchungen dieser beiden Autoren schwankte der Bakteriengehalt des Kuhkots zwischen 1800000 und 187500000 Keime pro Gramm. Unter ihnen herrschte, wie im menschlichen Kot, wieder die Sammelspecies *Bact. coli* vor, von der einzelne Rassen auch den bekannten Stallgeruch der Milch verursachen sollen (s. Bd. II, S. 239). Daneben wurden stets in größerer oder geringerer Zahl Sporen von aerobiotischen Heubazillen — das Ausgangsmaterial wurde pasteurisiert — sowie nach Fütterung mit eingesäuerten Kartoffeln *Oidium lactis* gefunden. Eine gesetzmäßige Beziehung der Keimzahl zur Art der Fütterung war bei den wenigen Untersuchungen nicht zu beobachten. Bei Heufütterung stieg der Keimgehalt sehr stark gegenüber Grasfütterung. Daß mit der Plattenmethode nur ein kleiner Prozentsatz der wirklich vorhandenen lebenden Keime gefunden wurde, ist für den Kuhkot ebenso sicher, wie es für den Menschenkot experimentell erwiesen ist. Untersuchungen über den Bakteriengehalt anderer Kotarten liegen nicht vor. Aber bei ihnen liegen die Verhältnisse nicht anders. Haben wir doch Grund zu der Annahme, daß die Bakterien im Darm eine große Rolle bei der Verdauung spielen, sogar unentbehrlich sind. Gegenüber den Ergebnissen Nuttall's und Thierfelder's (1), denen es gelang, steril geborene Meerschweinchen einige Zeit mit steriler Milch zu ernähren, kamen Schottelius (1) für Hühner, O. Metschnikoff (1)

sogar für Kaulquappen (die Larven von *Rana temporaria*) zu dem Ergebnis, daß Bakterien für die Ernährung der Tiere unentbehrlich sind. Daß die Keime in den bei der Geburt sterilen Darm mit der Nahrung eingeführt werden, erscheint als selbstverständlich. Im übrigen sei auf S. 93 u. f. dieses Bandes sowie auf das 22. Kapitel des II. Bandes verwiesen.

Aehnlich groß wie die Individuenzahl scheint auch die Artzahl der in den Fäces enthaltenen Mikroorganismen zu sein. Abgesehen von dem *Bact. coli commune*, dem sogen. obligaten Darmbakterium, das Lewin (1) allerdings bei 75 Proz. der untersuchten Pflanzenfresser und bei 78 Proz. der Nichtpflanzenfresser vermißte, sind eine große Anzahl der verschiedensten Arten von Spaltpilzen und Eumyceten als im Kot vorkommend bekannt. Wüthrich und E. von Freudenreich (1) fanden mehr oder minder zahlreiche Bakterienkeime aus der Gruppe der Heubazillen im Kuhkot, Herzberg (1) im Menschenkot. Eine reiche Flora der verschiedensten Bakterienarten fand Kern (1) in Vogelexkrementen. Auf die einzelnen im Kot der verschiedenen Haustiere gefundenen Bakterienformen können wir hier nicht eingehen. Es sei nur noch bemerkt, daß Neubauer (1) Keime des malignen Oedems (s. Bd. II, S. 118) und des Tetanus (s. S. 113) im Rinderkot nicht zu finden vermochte, und daß dieser überhaupt arm an Anaeroben sich erwies. Einzelne wichtige Arten und Sippen werden später erwähnt werden. Außer Bakterien enthält aber der Kot noch zahlreiche Keime von Eumyceten. Unter ihnen stellen Mucorineen und gewisse Ascomyceten das größte Kontingent. Wir verweisen nur auf die Aufzählung bei Lindau (1) und auf E. Chr. Hansen (1) sowie auf A. de Bary (1) und Zopf (1). Ein Bild dieser reichhaltigen Flora gibt der einfache Versuch, der in jedem botanischen Laboratorium angestellt, und bei dem frischer Pferdekot unter einer Glasglocke gehalten wird: Nach kurzer Zeit (1—2 Tagen) erscheinen Rasen von *Mucor mucedo* und anderen Mucorineen, die von Piloboleen abgelöst werden. Vielfach tritt auch der Schleimpilz *Dictyostelium* auf. Es folgen Ascomyceten der verschiedensten Art, Sordarien, Ascoboleen usw., endlich Basidiomyceten (*Coprinus*-Arten). Auch Myxobakterien stellen zufolge Baur (1) und Quehl (1) sich ein.

Zu den im Kot vorhandenen Organismenkeimen treten nun im Stallmist noch die der Streu, deren Zahl nur bei Verwendung von Torfstreu zufolge Vogel (2) nach den übereinstimmenden Angaben von Gärtner, Fraenkel und Stutzer gering ist. Allerdings ist bei dieser Untersuchung nur auf gelatinewüchsige Bakterien, nicht auf Fadenpilze Rücksicht genommen. Und Backhaus fand in Torfstreu pro Gramm immerhin rund 2 Millionen Keime; vergl. darüber Bd. II, S. 12, wo auch über den Keimgehalt des Streustrohes einige Zahlen mitgeteilt sind. Um so zahlreicher sind die Keime in den sonstigen Streumaterialien (Stroh, Laubstreu usw.). Gegenüber Kot und Streu als natürlichen Trägern von Keimen kommt die Infektion aus der Luft gar nicht in Betracht. Im Gegenteil stammen die Keime der Stalluft größtenteils aus dem Kot bezw. vom Futter und aus der Streu.

Ueber das Wachstum von pathogenen Mikroorganismen (Typhus, Cholera etc.) in Stallmist und Jauche vergleiche man Almquist (1).

Wie bei diesem Reichtum an Keimen nicht wundernehmen kann, bildet der Stallmist schon im Stall selbst und weiter auf der Düngerstätte das Substrat, auf und in dem zahlreiche Organismen, Bakterien und höhere Pilze, üppig gedeihen und tiefgreifende Zersetzungen hervor-

rufen. Diese Zersetzungen sind sogar, wenigstens zum Teil, notwendig oder erhöhen doch den Wert des Mistes. Der sogen. verrottete Stalldünger ist bekanntlich weit schneller wirksam als der frische Mist. Wenn wir auch noch nicht in der Lage sind, das, was der Landwirt unter dem Begriff „Verrotten" begreift, exakt zu definieren, so kann 5 doch kaum ein Zweifel darüber sein, daß es sich um Vorgänge mikrobiologischer Natur handelt, die wahrscheinlich in erster Linie die stickstofffreien Bestandteile des Düngers betreffen. Darauf weist die Beobachtung REITMAIR's (1) hin, der auch aus einem wesentlich nur aus Kot und Einstreu bestehenden Gemisch ohne Jauchezusatz einen ausreichend 10 verrotteten Mist erhielt. Sicher sind die Veränderungen, welche die stickstoffhaltigen Stoffe des Stallmistes während der Lagerung erleiden, und welche, wenigstens in ihrem Endergebnis, leider mehr oder weniger nachteilig zu sein pflegen, von Mikroorganismen veranlaßt.

§ 111. Zersetzung der stickstofffreien Stoffe. Die Selbsterwärmung 15 des Stallmistes.

Von den stickstofffreien organischen Stoffen des Stallmistes sind die wichtigsten diejenigen, welche die Zellwände der Futterreste im Kot und der Streumaterialien bilden, also hauptsächlich Derivate von Zuckerarten, Hexosen und Pentosen, zum Teil in der verholzten Form, also 20 inkrustiert mit gewissen Körpern der Benzolreihe (Hadromal usw.). Daneben kommen allerdings auch noch andere Körper in Betracht, sicher z. B. organische Säuren bezw. deren Salze, die zum Teil durch die Darmgärung entstanden sind. Die Tätigkeit der schon im Stall sich entwickelnden Mikroorganismen wirkt nun darauf hin, daß die Masse der orga- 25 nischen Substanz im Mist immer geringer wird. Die aerobiotischen Mikroorganismen verbrennen im Atmungsprozeß organische Substanz, die anaerobiotischen vergären sie. Die Endprodukte der Atmung sind Kohlendioxyd und Wasser, die der Gärung Gase verschiedener Art, darunter wohl stets ebenfalls Kohlendioxyd. Beide Prozesse wirken also darauf 30 hin, daß in einem gegebenen Düngerquantum die Menge der organischen Substanz stetig abnimmt.

In jedem Düngerhaufen sind in der Praxis wohl immer beide Arten der Zersetzung gegeben. In den Partien, zu welchen die Luft Zutritt hat, werden wesentlich Aerobier tätig sein, während an solchen Stellen, 35 zu denen die Luft keinen Zutritt findet, insbesondere also in den tieferen und inneren Schichten des regelrecht aufgesetzten, fest gepackten Düngerhaufens, Anaerobe mehr oder minder ausschließlich ihre zersetzende Tätigkeit entfalten. Daß das in der Tat der Fall ist, hat DEHÉRAIN (1) bereits im Jahre 1884 gezeigt. Die Atmungstätigkeit der aeroben 40 Organismen führt zu einer mehr oder weniger weitgehenden Temperaturerhöhung des Mistes, die kurz schon im 24. Kapitel des I. Bandes erwähnt ist, und auf welche später zurückzukommen sein wird. Die weniger weitgehende Zersetzung des Mistes durch Anaerobe geht natürlich auch Hand in Hand mit einer weit geringeren Wärmeproduktion. 45 DEHÉRAIN fand dementsprechend die oberen Schichten eines Düngerhaufens 65—68° warm, während 0,5 m über dem Boden die Temperatur im Düngerhaufen nur 55° betrug. GAYON (1) sah bei Versuchen, bei denen je 1 cbm Pferdedünger bei Luftzutritt und unter Luftabschluß gehalten wurde, die Temperatursteigerung im ersteren Falle bis auf 50

27° C gehen, im letzteren Falle nur bis 22°. Dehérain und Dupont (2) haben dann weiter gezeigt, daß, ganz dieser Verteilung der Zersetzungserreger entsprechend, in den oberen Partien des Düngerhaufens neben Kohlendioxyd, Sauerstoff und Stickstoff höchstens Spuren brennbarer Gase sich finden, während in den inneren Partien des dichten Haufens Sauerstoff fehlt und neben Kohlendioxyd und Spuren von Stickstoff brennbare Gase, Wasserstoff und besonders Methan, auftreten. Bei der anaeroben Gärung des Stallmistes sind also insbesondere methanbildende Bakterien tätig. Schloesing (1) fand bei der Zersetzung von Stallmist unter Luftabschluß nur Kohlensäure und Methan. Daß die Cellulose wenigstens zum Teil das Material dieser Methangärung ist, wird dadurch wahrscheinlich, daß Omelianski im Pferdekot den Urheber der Methangärung der Cellulose (s. S. 252) regelmäßig fand. Auf S. 250 sind auch weitere Arbeiten über die Methangärung des Stallmistes von Reiset, Schloesing und Gayon angeführt, welch letzterer (1) bei Laboratoriumsversuchen Methan nur bei Ausschluß des Luftzutrittes auftreten sah.

Wie der Gang der Zersetzung, so ist auch die **Selbsterwärmung** des Stallmistes von sehr verschiedener Intensität. Daß sie von der Tätigkeit der Gärungsorganismen herrührt, ist nicht nur an sich wahrscheinlich, sondern findet auch in der Erfahrung eine Stütze, daß bei niederer Außentemperatur, im Winter, der Stallmist sich viel langsamer, zögernder erwärmt als unter Temperaturverhältnissen, welche das Gedeihen der Mistflora begünstigen. Daß bei den unter Luftausschluß verlaufenden Gärungen im allgemeinen eine geringere Wärmemenge produziert wird als bei der Tätigkeit der aeroben Zersetzungserreger, ist auch bereits erwähnt worden. Die Wirkungsweise der letzteren ist eben eine viel gründlichere: Sie veratmen die organische Substanz vollständig. Dementsprechend schwindet die organische Masse des Düngers um so mehr, je reichlicheren Zutritt die Luft hat, im locker gelagerten Dünger also schneller als im fest gelagerten. Zahlenmäßige Angaben über die Temperaturerhöhung im Düngerhaufen machen Holdefleiss (1 u. 2), sowie Hansen und Günther (1) u. a. Diese Angaben sind indessen nur qualitativer Natur. Die beobachtete Temperatursteigerung hängt ja nicht nur von der produzierten Wärmemenge sondern in ebenso hohem Grade von der Höhe der Verluste durch Leitung und Ausstrahlung und von der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung des Düngers, besonders von seinem Wassergehalte, ab, letzteres schon wegen der verschiedenen spezifischen Wärme der einzelnen Bestandteile. Daher sind die sogen. „hitzigen" Dünger gleichzeitig die, welche wasserarmen Kot enthalten (Pferde- und Schafmist), während man die den wasserreichen Kot von Rindvieh und besonders Schweinen enthaltenden Mistarten als „kalt" bezeichnet: letztere erwärmen sich schwer, weil sie mehr Wasser enthalten. Deshalb bildet auch der Temperaturgrad der Selbsterwärmung nur einen ungefähren Maßstab für die Intensität der vor sich gehenden Zersetzungen, nicht aber einen absoluten. Es ist immerhin denkbar und möglich, daß in einem weniger sich erwärmenden Düngerhaufen die Zersetzung intensiver verläuft als in einem anderen, in dem die Selbsterwärmung höhere Grade erreicht.

Daß bei mangelndem Luftzutritt die Zersetzung der organischen Substanz weniger weit geht als bei reichlicherer Durchlüftung, folgt schon aus den Untersuchungen von Holdefleiss (1). Bei Tiefstalldünger, der unter den Tieren im Stalle liegen bleibt und von ihnen

festgetreten wird, bei dem also die Durchlüftung sehr beschränkt ist, betrug der Verlust an Trockenmasse nur 13 Proz., während beim Lagern im Freien der Verlust ein weit größerer war. Auch HEINRICH (1) fand in locker gelagerter Dungmasse eine außerordentlich starke Abnahme der organischen Substanz. Ebenso hemmt niedere Temperatur, welche das Wachstum von Pilzen und Bakterien hemmt, auch die Verluste an organischer Substanz; nach HEIDEN (1) verlor der Dünger von 30 Stück Rindvieh:

im Sommer in 6 Wochen 32,48 Proz. der Trockensubstanz, 6,42 Proz. des Stickstoffes,
im Winter in 6 Wochen 16,46 Proz. der Trockensubstanz, 7,75 Proz. des Stickstoffes.

Der Verlust an Trockensubstanz ist nicht nur unvermeidlich, sondern bis zu einem gewissen Grade sogar nützlich, indem dadurch der relative Gehalt des Stallmistes an eigentlichen Nährstoffen der Pflanzen gesteigert wird. Größere Verluste an organischer Substanz sind allerdings direkt schädlich, weil die organische Substanz als solche bodenverbessernd wirkt, die wasserhaltende Kraft und das Absorptionsvermögen des leichten Bodens erhöht, schweren Boden dagegen lockert und tätiger macht, überhaupt die physikalischen Eigenschaften des Bodens verbessert. Wünschenswert ist daher eine mittlere Stufe der Zersetzung des Stallmistes, eben jene Stufe, die der Landwirt als gut verrottet bezeichnet, die wir aber wissenschaftlich zu definieren nicht imstande sind. Bei allzusehr beschränktem Luftzutritt und bei allzu großem Wassergehalt, der eben den Luftzutritt am meisten erschwert, wird der Mist speckig, ein Zustand, in dem er besonders auf schwerem Boden nicht so günstig wirkt.

Daß bei der anaeroben Gärung des Stallmistes methan- und wasserstoffbildende Bakterien eine Rolle spielen, ist bereits erwähnt, und es ist auch auf die Wahrscheinlichkeit hingewiesen worden, daß speziell die Erreger der Methan- und Wasserstoffgärung der Cellulose im Stallmist tätig sind. Da indes OMELIANSKI (1) neuerdings gezeigt hat, daß zahlreiche organische Stoffe Methangärungen unterliegen können, die gewiß von ebenso zahlreichen Organismenarten hervorgerufen werden, so ist es wahrscheinlich, daß wenigstens ein Teil des bei der Gärung des Stallmistes gebildeten Methans solchen anderen Zersetzungen entstammt, zumal OMELIANSKI diese Gärungen großenteils durch Impfen der sterilen künstlichen Nährlösungen mit Mist einleiten konnte. Bei direkter Untersuchung fand SEVERIN (1) durch Agarkulturen in längere Zeit bei Sauerstoffabschluß aufbewahrtem Stallmist neben dem *Bac. tetani* noch einen anderen nicht-pathogenen Anaeroben. In einer späteren Arbeit beschreibt SEVERIN (2) dann noch zwei dem *Bac. tetani* ähnliche obligate und einen fakultativen Anaeroben (*Bac. pyocyaneus*, s. S. 92), die er in gärendem Pferdemist fand.

Für die aerobe Zersetzung, speziell für die Begleiterscheinung der Selbsterwärmung, machte COHN (1) den *Bacillus subtilis* verantwortlich, den er in heißem Pferdemist in großer Menge angetroffen zu haben glaubte. Die Identität der gefundenen Form mit dem Heubazillus ist indessen wohl nicht erwiesen. DUPONT (1) konnte denn auch das Vorkommen des Heubazillus im heißen Stallmist nicht bestätigen. Er erhielt ihn bei seinen Untersuchungen, bei denen er auf bei 50° noch wachsende Mikroben fahndete, nur einmal, sonst stets aus 50° warmem Mist den *Bac. mesentericus ruber* und bei noch höherer Temperatur bzw. aus noch heißerem Mist den Thermophilen *Bac. thermophilus Grignoni*. Von den beiden verbrennt der *B. mesentericus ruber* sehr energisch Zucker,

Stärke. Holzgummi (Xylan), deren Verschwinden aus dem Mist während der Gärung Dehérain bereits gezeigt hat, greift aber Cellulose nicht an. Auf Heu und Stroh läßt er sich gut kultivieren. Auch die Eiweißstoffe werden von ihm intensiv zersetzt. Der *Bac. Grignoni* wirkt im allgemeinen viel schwächer und ist auf Stärke sogar ohne Wirkung, ganz wie auf Cellulose. Er liebt eiweißreiche Substrate. Ob auch die von Miquel, Rabinowitsch, Tsiklinski u. a. in Fäces und Mist gefundenen Thermophilen (vergl. Bd. I, S. 448) eine Rolle spielen, ist fraglich. Jedenfalls hört nach den beiden Schloesing (1) erst bei 79,5° das Leben der Mikroorganismen im Stallmist auf, während bei 73° sich der Einfluß derselben noch deutlich zeigte, und bei 66° die Kohlensäureproduktion durch Organismen noch über 17-mal stärker war als die in sterilisiertem Dünger. Dadurch ist auch schon bewiesen, daß die Kohlensäureentwicklung im Dünger wesentlich auf der Tätigkeit von Mikroorganismen beruht. Auch Severin (1) fand die Kohlensäureentwicklung in einem sterilen künstlichen Gemisch von Stroh, Pferdekot und Harn sehr viel geringer als in einem ganz gleichen Gemisch, das nach der Sterilisation wieder mit drei aus Pferdemist isolierten Bakterien-Arten geimpft worden war. Bei dem Versuche, mit je 200 g des Gemisches angestellt, ergaben sich folgende Mengen entwickelter Kohlensäure:

	Geimpfte Portion	Sterile Portion
1. Woche	1,825 g	0,075 g
2. „	1,696 g	0,031 g
3. „	1,657 g	0,029 g
4. „	3,839 g	0,026 g
Zusammen	9,017 g	0,161 g

Eine Anzahl von Düngerbewohnern beschreibt Severin (2, 4, 5) in den Fortsetzungen dieser ersten Mitteilung.

In der dritten Mitteilung über seine Untersuchungen über Mistbakterien beziffert Severin (4) die Zahl der von ihm isolierten Bewohner des Pferdemistes auf 32. Von bekannten Arten finden sich darunter außer den bereits erwähnten *Bac. tetani* und *Bac. pyocyaneus* noch eine dem *Bac. mycoides* sehr ähnliche, wenn nicht mit ihm identische Form, ein Mikrokokkus, dem *M. aquatilis* ähnlich, sowie eine *Streptothrix*, der *Oospora Guignardi* ähnlich, die Sauvageau und Radais (1) aus Luft züchteten. Unter den Bakterien herrschen nach Severin (1) die Stäbchenformen vor: Unter 28 Bakterien waren nur 3 Kokken. Als Severin (3) die gefundenen Formen auf ihr Denitrifikationsvermögen, das heißt hier, ihre Fähigkeit Nitrate zu zerstören, prüfte, erwiesen sich *Bac. pyocyaneus* (s. S. 188) und ein „*Vibrio denitrificans*“ als energisch wirksam, sehr viel schwächer waren 7 andere Arten, von denen eine identisch war mit dem *Bac. indicus*. Soweit die Organismen, einzeln oder im Gemenge, geprüft wurden, zersetzten sie die künstliche Mistmischung bezw. Pferdemist unter Kohlensäurebildung. Die Intensität der letzteren war natürlich sehr verschieden; das Aussehen des Mistes war bei Beendigung der Versuche um so mehr verändert, je mehr Kohlensäure entwickelt war. Besonders energisch war in Severin's (4, 5, 7) Versuchen die oxydierende Tätigkeit des *Bac. pyocyaneus*, der in einem Versuche in 150 g Pferdekot, 15 g Stroh, 50 g Wasser und 50 ccm Pferdeharn in 70 Tagen bis zu 7,526 g Kohlensäure gebildet hatte. Dabei hatte der künstliche Mist eine dunkle, stellenweise schwarze Farbe angenommen und war

reich an Ammoniak. Der *Bac. pyocyaneus* selbst erwies sich bei Abschluß des Versuches als abgestorben.

Hier sei nur noch hervorgehoben, daß auf der Düngerstätte zweifellos auch die Fadenpilze an dem Schwinden der organischen Substanz stark beteiligt sind. Jedenfalls ist die Artzahl der Organismen, welche 5 an der Zerstörung der organischen Substanz des Düngers im Stall und auf der Düngerstätte arbeiten, unübersehbar groß, und ebenso groß und noch größer als die Zahl der Mikroorganismen und die Zahl der organischen und zersetzungsfähigen Körper und Stoffe, die im Stallmist vorkommen, ist auch die Zahl der im Stallmist möglichen und vor- 10 kommenden Gärungs- und Zersetzungsvorgänge, von denen HEBERLDT (1) eine allerdings keineswegs erschöpfende Aufzählung zu geben versuchte.

Wir wenden uns jetzt dem Schicksal des weitaus teuersten und wichtigsten Nährstoffs zu, den wir durch die Düngung mit Stallmist dem Boden zuführen, des Stickstoffs, während die übrigen, die minera- 15 lischen Nährstoffe im Stallmist (Kali, Phosphorsäure, Kalk, Magnesia), durch die Tätigkeit der Mikroorganismen wenigstens quantitative Veränderungen nicht oder doch kaum erfahren können, und jedenfalls diese Veränderungen nicht ins Gewicht fallen.

§ 112. Das Schicksal der Stickstoffverbindungen im Stallmist. 20

Wenn wir die Zersetzung der Stickstoffverbindungen getrennt von der der Kohlenstoffverbindungen behandeln, so geschieht das nicht, weil etwa ganz verschiedene Organismen bei beiden Vorgängen tätig wären. Die Trennung ist vielmehr eine künstliche, da ja natürlich auch für die bei den bisher behandelten Vorgängen tätigen Mikroorganismen der 25 Stickstoff ein notwendiger Nährstoff ist, den sie aus Stickstoffverbindungen des Mistes beziehen, und da auch sie dementsprechend die stickstoffhaltigen Stoffe des Stallmistes angreifen und verändern.

Der Gesamtstickstoffgehalt des frischen Stallmistes ist je nach der Individualität der Tiere, nach der Art der Fütterung, nach der Einstreu 30 usw. außerordentlich schwankend, so daß es zwecklos ist, Zahlen mitzuteilen. Die Zahl der Verbindungsformen des Stickstoffs im Stallmist ist jedenfalls eine sehr große. Im Harn ist der Stickstoff ursprünglich in Form von dem Harnstoff mehr oder weniger nahestehenden Verbindungen vorhanden, unter denen der Harnstoff selbst bei weitem vor- 35 waltet. Im Harn der Menschen und der Fleischfresser kommt ihm zunächst an Menge, allerdings weit hinter ihm zurücktretend, die Harnsäure, bei den hier in erster Linie in Betracht kommenden Pflanzenfressern die Hippursäure. Der Kuhharn enthält neben 2—5 Proz. Harnstoff bis 0,5 Proz. Hippursäure. Im Pferdeharn sind die entsprechenden Werte 40 3 bezw. bis zu 2 Proz. Der Harnsäuregehalt ist bei beiden sehr gering (hundertstel Prozent).

Alle diese Stoffe unterliegen, sobald der Harn mit dem Kot und der Streu in Berührung kommt und dadurch mit Mikroorganismen inficiert wird, der Ammoniakgärung. Bezüglich dieser sei auf das 3. Kapitel 45 dieses Bandes verwiesen. MIQUEL hat insbesondere nachgewiesen, daß die Mikroorganismen des Kots und des Düngers zu einem großen Prozentsatz fähig sind, Harnstoff zu vergären. Die sofort im Dünger beginnende ammoniakalische Gärung des Harnstoffs macht sich der Nase schon beim Betreten der Ställe und in der Nähe der Düngerhaufen und Jauche- 50

gruben durch den Ammoniakgeruch bemerklich. Ebenso unterliegt die Harnsäure einer ammoniakalischen Gärung, indem aus ihr zunächst durch Mikroorganismen Harnstoff abgespalten wird, den dann die Harnstoffbakterien in kohlensaures Ammoniak verwandeln; vergl. darüber S. 83.
5 Guanin wird nach ULPIANI und CINGOLANI (1) von einem besonderen, im Taubenmist gefundenen Bakterium unter Bildung von Kohlensäure, Harnstoff und Guanidin zerlegt. Die Gärung der Hippursäure (Benzoylamidoessigsäure, $C_6H_5CO.NH.CH_2.COOH$) ist auf S. 84 behandelt. Hier sei nur nachgetragen, daß SCHELLMANN (1) aus Jauche, Erde und Torf
10 28 Bakterienarten isoliert hat, welche Hippursäure unter Ammoniakbildung zersetzen. Die gleichen Formen spalteten, entsprechend der notwendigen primären Spaltung der Hippursäure in Glycocoll und Benzoesäure, auch aus Glycocoll Ammoniak ab. Nur 7 von den 28 Formen vergärten auch Harnstoff und Harnsäure; die Wirksamkeit der anderen
15 war auf die Hippursäure beschränkt. Bei Luftabschluß sah SCHELLMANN bei Impfung mit Jauche u. dergl. nie Bildung von Ammoniak aus Hippursäure auftreten, im Gegensatz zu den Angaben von DEHÉRAIN und DUPONT (3).

Der Abbau des Harnstoffs und der anderen eben besprochenen Stoffe
20 zum Ammoniak ist deswegen für den Verwendungszweck des Stallmistes notwendig, weil der Stickstoff in ihnen den Kulturpflanzen unzugänglich ist. Eine andere Frage, auf die später zurückzukommen sein wird, ist es, ob es vorteilhaft ist, daß dieser Abbau bereits so früh, gleich nach und bei der Produktion des Stalldüngers beginnt.

25 Im Kot und in den Streumaterialien ist der Stickstoff in Form mehr oder minder hochmolekularer Protein- und Nucleinstoffe sowie von Amidoverbindungen verschiedener Art gebunden. Daß unverdauliche Proteinstoffe vorwalten, hat WEISKE (1) für die Heufäces eines Hammels mit 12,81 Proz. Rohprotein in der Trockensubstanz gezeigt. Ein nicht ge-
30 ringer Teil dieser Stickstoffverbindungen des Kotes gehört sogar selbst der Leibessubstanz von lebenden oder toten Bakterien an. Für Hundekot berechnet STRASSBURGER (1), daß bis mehr als die Hälfte des Gesamtstickstoffs auf die Bakterien des Kotes entfällt, und bei Menschenkot ist es wohl nicht anders. Auch für die Proteine besteht natürlich im Mist
35 die Möglichkeit des Abbaues durch die Tätigkeit von Mikroorganismen bis zum Ammoniak, wie das im 4. Kapitel dieses Bandes eingehend geschildert ist. Es scheint indes, als wenn das Ammoniak des Düngers wesentlich aus dem Harn stamme; vergl. DIETZELL (2). Es ist ferner zu bedenken, daß die Mikroorganismen des Stallmistes, die Bakterien und
40 die höheren Pilze, auch zum Aufbau ihres eigenen Körpers Stickstoff nötig haben, und daß sie diesen bald Eiweißstoffen, bald Amidoverbindungen, vielleicht sogar Ammoniumsalzen entnehmen. STUTZER (1), der auch Untersuchungen von MAERCKER citiert, gibt z. B. an, daß im Rindviehmist, in dem ursprünglich der Gehalt an löslichem und an un-
45 löslichem Stickstoff gleich ist, nach längerer Lagerung auf 100 Teile unlöslichen Stickstoffs höchstens 35 Teile löslichen Stickstoffs entfallen, meist nur 20—25 Teile, häufig sogar nur 10 Teile, ohne daß entsprechend viel löslicher Stickstoff durch Auswaschen etc. verloren gegangen wäre. Nach MAERCKER enthielt Fohlenmist auf 100 Teile unlöslichen Stickstoffs
50 ursprünglich 40, nach $2^1/_2$ Monaten aber nur noch 11 Teile löslichen Stickstoffs. In einem Stallmist, in dem das Verhältnis 100 : 21 war, stieg es nach ebensoviel Zeit auf 100 : 6. So wirken die Mikroorganismen des Mistes nicht nur abbauend, sondern sie können auch kompliziertere orga-

nische Stickstoffverbindungen (Bakterieneiweiß u. dergl.) aus einfacheren Stickstoffverbindungen aufbauen, synthetisch tätig sein. Dementsprechend ist der Bestand des Stalldüngers an den verschiedenen Stickstofformen die Resultante dieser beiden antagonistischen Prozesse. Solange reiche Mengen zur Ernährung tauglicher Kohlenstoffverbindungen vorhanden 5 sind, wird die synthetische Tätigkeit besonders stark sein; später erst wird der Abbau der Proteinstoffe vorherrschen, und das wird beim Stallmist meist erst im Laufe der Verwesung im Boden eintreten. Bei reichlicher Gegenwart gut nährender Kohlenstoffverbindungen, besonders von Kohlenhydraten, wird sich eben eine ganz andere Flora entwickeln, als 10 wenn nur Stickstoffverbindungen (Eiweißstoffe, Amide) zu Gebote stehen; vergl. darüber auch die Bemerkungen und Literaturcitate auf S. 98 dieses Bandes. Daß die Bildung hochmolekularer unlöslicher organischer Stickstoffverbindungen aus Ammoniak oder Amiden die Schnelligkeit der Stallmistwirkung nicht erhöht, in dieser Beziehung also nicht vorteil- 15 haft ist, erscheint ziemlich selbstverständlich, obgleich allerdings nach Maercker's (2) Versuchen auch ein hoher Gehalt an Ammoniak und Amiden eine gute Stickstoffwirkung des Mistes noch keineswegs sicher verbürgt.

Daß bei der Aufbewahrung von Stallmist **Stickstoffverluste** ein- 20 treten, hat wohl zuerst Voelcker (1) gezeigt, bei dessen Versuchen indes nicht genügend dafür gesorgt war, daß nur durch Zersetzung etwas verloren gehen konnte. Noch weniger war das bei den Versuchen Wolff's (1) der Fall. Indem wir bezüglich anderer Arbeiten auf die zusammenfassende Darstellung König's (1) verweisen, wenden wir uns 25 der wichtigen Arbeit von Holdefleiss (1) zu, der bei seinen Untersuchungen einen Stickstoffverlust bis zu 23,4 Proz. des ursprünglichen Gehaltes bei siebenmonatlicher Lagerung beobachtete. In einer neueren Arbeit (2) fand er einen Verlust von 18 Proz. bei fünfmonatlicher Lagerung. Der Trockensubstanzverlust betrug bei den ersten Versuchen 30 ca. 30, bei dem letzten 22,4 Proz. der ursprünglichen Masse. Sehr eingehende und zahlreiche Versuche verdanken wir Heiden (1, 2, 4), der bei seinen ersten Versuchen am Dünger von 30 Stück Großvieh folgende Verluste beobachtete, berechnet in Prozenten der ursprünglichen Menge:

	im Sommer		im Winter	
	Trockensubstanz	Stickstoff	Trockensubstanz	Stickstoff
innerhalb 6 Wochen	32,48	6,42	16,46	7,75
innerhalb 12 Wochen	43,52	24,77	26,66	15,42

Infolge der die Zersetzung begünstigenden höheren Temperatur war 35 im Sommer also der Gang der Zersetzung ein lebhafterer als im Winter. Andere Versuche mit Jauche ergaben folgende Verluste:

bei 91-tägiger Aufbewahrung 13,81—23,68 Proz. des ursprünglichen Stickstoffgehalts
bei ca. 6-monatlicher „ 12,9 „ „ „ „

und zwar waren die Verluste um so größer, je weniger der Luftwechsel verhindert war. Ebenso beobachteten J. Hansen und Günther (1) bei 11- bzw. 10-wöchentlicher Lagerung Stickstoffverluste von 23,68 bzw. 40 17,76 Proz. des ursprünglichen Gehalts, und bei den Versuchen von Pfeiffer (2) erlitt der wie üblich behandelte Stallmist bei 107- bzw. 113-tägiger Lagerung Stickstoffverluste von 24,7 bzw. 19,1 Proz. Jedenfalls steht danach fest, daß die Stickstoffverluste beim Aufbewahren des Stallmistes im allgemeinen recht hohe sind. 45

Es erhebt sich natürlich die Frage, wodurch denn diese den Düngewert des Mistes sehr beeinträchtigenden Verluste verursacht werden.

Die Antwort lautet, gerade wie bei den im § 111 besprochenen Trockensubstanzverlusten: von den Kleinlebewesen des Stallmistes. Das folgt einfach daraus, daß der frische Mist, ja sogar der Harn, Stickstoffverluste nicht erleidet, wenn er steril ist. Während sterilisierter und dann geimpfter Mist (200 g) in SEVERIN's (1) Versuchen in 29 Tagen 0,025 g Ammoniak verlor, blieb dieser Verlust ohne Infektion aus, und DEHÉRAIN (3) sah im sterilen Mist die in nicht sterilisiertem Mist gefundene Entbindung von freiem Stickstoff nicht auftreten.

In der landwirtschaftlichen Praxis kommen zu den hier zu betrachtenden Verlusten vielfach noch andere rein mechanischer Art, herrührend insbesondere vom Ablaufen der Jauche u. dergl. Hier sei nur ein indirekt von Organismen hervorgerufener Verlust erwähnt, herrührend vom Verwehen gebildeter Pilzsporen. Manche Mistpilze (z. B. *Pilobolus*, *Coprinus*, viele Ascomyceten) übergeben sogar mittels besonderer Spritzmechanismen ihre in Menge gebildeten Sporen den Luftströmungen, die sie und damit den in ihnen gespeicherten, dem Mist entnommenen Stickstoff wegführen. Wie groß die dadurch hervorgerufenen Verluste in Wirklichkeit sind, läßt sich nicht abschätzen. Es sei indes daran erinnert, daß MÜLLER-THURGAU (1) für edelfaule Traubenbeeren den durch Verwehen der *Botrytis*-Sporen hervorgerufenen Stickstoffverlust auf ${}^1/_5$—${}^1/_4$ der ursprünglichen Menge schätzt, und daß SCHERPE (1) beim Schimmeln von Getreide wesentlich wohl durch Verstäubung von Schimmelsporen verursachte Stickstoffverluste bis zu 10 und 17 Proz. gefunden hat. Daß die durch Sporenverstäubung, auch durch Entwicklung fliegender Insekten u. dergl. hervorgerufenen Stickstoffverluste bei Stallmist ähnliche Höhen erreichen, darf man allerdings wohl für ausgeschlossen halten.

Im übrigen ist einer der Wege, auf denen sicher Stickstoff verloren geht, schon auf S. 423 angedeutet worden: Er besteht in der Verflüchtigung des Ammoniaks, das durch Organismentätigkeit hauptsächlich aus den Stickstoffverbindungen des Harnes gebildet wird. Infolge der im § 111 betrachteten reichen Kohlensäureentwicklung im Mist wird das entstehende Ammoniak zunächst als Bikarbonat gebunden, das indessen wenig beständig und stets partiell gespalten ist. In demselben Grade, wie die gasförmigen Spaltungsprodukte (Kohlensäure und Ammoniak) durch Diffusion und Luftströmungen entfernt werden, geht die Dissociation weiter, und es erklärt sich so schon, wenigstens zum Teil, weshalb die Stickstoffverluste um so größer sind, je lockerer der Stallmist lagert, und je leichter und reichlicher die Luft zutreten kann.

Indessen ist es sicher, daß die Stickstoffverluste nicht allein, jedenfalls nicht immer allein auf Rechnung des entweichenden Ammoniaks zu setzen sind. Insbesondere hat PFEIFFER (1) bei Laboratoriumsversuchen mit Stallmist, durch den Luft gesogen wurde, beträchtliche Stickstoffverluste beobachtet, die nicht auf Rechnung des Ammoniaks geschrieben werden können. Die entweichende Luft passierte bei diesen Versuchen Vorlagen, in denen durch starke Säuren jede Spur entweichenden Ammoniaks aufgefangen wurde. Ammoniak wurde aber nur in minimalen Spuren in den Vorlagen gefunden, und doch betrugen die Stickstoffverluste des Düngers bei zehnmonatlicher Dauer der Versuche zwischen 9,79 und 42,60 Proz. Es lassen also diese Versuche gar keinen Zweifel daran, daß der Stickstoff aus dem Stallmist jedenfalls auch in einer durch Säure nicht absorbierbaren Form entweichen kann, und als solche kann nur der freie Stickstoff in Betracht kommen. An diesem Schluß ändert auch nichts die Beobachtung, daß aus einem Gemisch von

Harn und Torf mit wenig Jauche unter gleichen Verhältnissen der gesamte Stickstoffverlust in Form von Ammoniak erfolgte. Hier fehlte eben der Kot! An anderem Orte beobachtete Pfeiffer (2) einen Stickstoffverlust von 7,1 Proz. bei einem mit Schwefelsäure konservierten Stallmist, der bei Abschluß des Versuches noch sauer reagierte, aus dem also Ammoniak kaum entwichen sein dürfte. Nach Schneidewind (1) überwiegen unter den Verhältnissen der Praxis die Verluste in Form von Ammoniak weit diejenigen in Form von elementarem Stickstoff, und das dürfte das Normale sein. Nähere Untersuchungen sind allerdings wünschenswert, schon weil König (1) und ihm zufolge auch Hellriegel (1) zu entgegengesetzten Resultaten gelangten. Daß in den ersterwähnten Versuchen so gut wie kein Ammoniak entwich, ist wohl nur dadurch zu erklären, daß in den Flaschen, in denen der Dünger aufbewahrt wurde, ein Feuchtigkeitsverlust nicht stattfand, und die Temperatur relativ niedrig blieb. In den ersten 5 Monaten hatte bei relativ geringen Verlusten an Gesamtstickstoff auch hier eine Neubildung von Ammoniak (um 1,99 bis 13,92 Proz.) stattgefunden, die erst bis Schluß des Versuches einer allerdings sehr viel größeren Abnahme des Ammoniakgehaltes (um 7,67—87,31 Proz.) Platz machte.

Es bestätigt dieses Ergebnis der Untersuchungen Pfeiffer's und seiner Mitarbeiter ältere Angaben über die **Entbindung freien Stickstoffs** bei der Zersetzung organischer Reste durch Mikroorganismen (Fäulnis, Verwesung), Angaben, auf welche bereits auf S. 190 dieses Bandes eingegangen worden ist, denen aber andere am gleichen Orte genannte Forscher entgegengetreten sind. Der Widerspruch in den Ergebnissen verschiedener Forscher findet indes wohl dadurch seine Erklärung, daß bei den verschiedenen Versuchen verschiedene Bedingungen obwalteten, und daß die Entbindung von freiem Stickstoff bei Fäulnis und Verwesung nur unter bestimmten, aber noch unbekannten Bedingungen und nur bei Gegenwart und unter der Einwirkung bestimmter Mikroorganismen stattfindet. Natürlich hat man ja seither stets mit spontanen Fäulnisprozessen, nur selten mit Reinkulturen und dann nur mit solchen weniger Arten gearbeitet.

Wir kennen nun in der Natur mit Sicherheit nur einen Prozeß, bei dem freier Stickstoff durch die Tätigkeit von Mikroorganismen gebildet wird: Das ist die im 6. Kapitel dieses Bandes (S. 182) behandelte Denitrifikation, die Reduktion von Nitraten bis zum Entweichen des freien Stickstoffs, und es lag natürlich, nachdem man durch Stutzer's, Wagner's und Maercker's Untersuchungen auf den Gehalt des Stallmistes an denitrifizierenden Bakterien einmal aufmerksam geworden war, nichts näher, als die Stickstoffverluste des Stallmistes beim Lagern auf Denitrifikation zurückzuführen. Das taten z. B. Burri, Herfeldt und Stutzer (1), ferner Stutzer und Hartleb (1), von denen Stutzer diesen Standpunkt auch in seinem Buche (1) allerdings nicht so entschieden vertritt, ferner Maercker (2) und Schneidewind (1). Es ist aber selbstverständlich, daß Denitrifikation erst dann eintreten kann, wenn in dem ursprünglich sicher salpeterfreien Stallmist Salpeter entstanden ist, und wie Behrens (1) schon hervorhob, ist das Eintreten einer Nitrifikation im Stallmist, solange er noch den Namen Mist verdient, also vor allem wesentlich aus organischer Substanz besteht, nach allem, was wir durch Winogradsky's Forschungen über den Einfluß organischer Substanzen auf die Nitritbildung und von Ammoniak auf die Nitratbildung wissen, nicht gerade wahrscheinlich. Behrens gelang es denn auch nicht, in

Abkochungen von Stallmist, Pferde- und Kuhkot durch Einimpfung von sonst kräftig nitrifizierenden Rohkulturen aus Boden, in denen auch Ammoniakbildner nicht fehlten, Nitrifikation hervorzurufen. Auch konnten u. a. Dehérain und Dupont (1) niemals Salpeter im Stallmist finden. Dietzell (1) fand solchen nur, wenn der Stallmist mit Erde kompostiert war, was nicht wundernehmen kann, und Pfeiffer (1) fand nur ausnahmsweise unbestimmbare Spuren, deren Herkunft wohl etwas zweifelhaft sein dürfte. Maercker (2), der Salpeter in zahlreichen Düngerproben fand, kommt doch zu dem Ergebnis, daß auf den Salpeter ein nennenswerter Anteil am Gesamtstickstoffgehalt des Düngers nicht entfällt. Auch Holdefleiss (1) fand bereits sehr geringe Mengen Salpeter im verrotteten Dünger, und noch früher E. Wolff (2), aber nur bei Versuchen im kleinen, nicht auf dem Düngerhaufen. Immendorff (2) gibt an, daß in den oberflächlichen Schichten des Stalldüngers sich Nitrifikation vollzieht; das gebildete Ammoniumnitrit soll dann beim Versinken in tiefere Schichten unter Entbindung von freiem Stickstoff zersetzt werden. Daß die Nitrifikation aber auch nach Immendorff's Ansicht nur in geringem Maße stattfindet, folgt ohne weiteres daraus, daß nach ihm der Stickstoff wesentlich als Ammoniak entweicht und nur in ganz unbedeutendem Maße in freiem Zustande.

Nun ist aber das Fehlen oder das nur spurenweise Vorkommen von Nitraten in Dünger noch kein Beweis für das Fehlen des Nitrifikationsvorganges; es könnte ja der entstehende Salpeterstickstoff immer gleich wieder der Denitrifikation verfallen. Es sind deshalb kritische Untersuchungen über die Nitrifikation im Stallmist sehr wünschenswert. Zur Zeit ist kein Grund vorhanden, der Denitrifikation einen wesentlichen Anteil beim Zustandekommen der Stickstoffverluste des Stallmistes zuzuschreiben.

Wir müssen vielmehr in Uebereinstimmung mit der früher von Immendorff (1) geäußerten Ansicht, mit Dehérain (3), Dehérain und Dupont (3), Jentys (1), Gibson (1), Rogóyski (2), Pfeiffer (2) und anderen Forschern annehmen, daß durch gewisse Mikroorganismen eine direkte Verbrennung des Ammoniaks zu Wasser und Stickstoff, organischer Stickstoffverbindungen zu Kohlendioxyd, Wasser und Stickstoff bewirkt wird. Einen direkten Beweis für die Existenz solcher Organismen haben wir freilich noch nicht. Dehérain, der bei seinen Versuchen 19,3 bzw. 15,2 Proz. des ursprünglich in organischer Form im Mist vorhandenen Stickstoffs ohne Ammoniak- oder Salpeterbildung in einer durch Säuren nicht absorbierbaren Form, also als freien Stickstoff, entweichen sah, läßt in der oben bereits citierten Arbeit vermutungsweise die thermogenen Bakterien, welche die Selbsterwärmung des Mistes hervorrufen, diese Oxydation herbeiführen. In sterilisiertem Mist bleibt nach ihm bei gleicher Versuchsanordnung der Stickstoffgehalt konstant. Ebenso hält Jentys die thermogenen Bakterien für diejenigen, welche Ammoniak bezw. organische Stickstoffverbindungen bis zur Entbindung von freiem Stickstoff oxydieren, während Gibson gewisse Bodenbakterien verantwortlich macht. Dupont (1) gibt für den von ihm im Mist gefundenen *Bac. mesentericus ruber* direkte Entbindung von Stickstoff aus organischen Stickstoffverbindungen an, wenn diese auch recht wenig ausgiebig war. In 11 Tagen bildete der Bazillus in 20 ccm Bouillon unter Verbrauch von 34,42 ccm Sauerstoff 3,36 ccm Stickstoff neben 35,38 ccm Kohlensäure. Leider liegt nur ein einziger Versuch in dieser Richtung vor. Die Angabe von Schittenhelm und Schroeter (1), nach denen gewisse Bakterien (*Coli*- und Gemenge von

Fäkalbakterien Nucleinsäure bis zur Entbindung von freiem Stickstoff abbauen, wurde bald von Oppenheimer (1) als irrig erwiesen.

Andererseits liegen seit Reiset (1), der auch mit Mist arbeitete, eine Anzahl von Angaben, so u. a. von Lawes und Gilbert (1), König und Kiesow (1), Morgen (1), vor, nach denen bei der Fäulnis stickstoffhaltiger Substanzen stets Stickstoff frei werden soll, denen aber die Versuche von Hüfner (1), A. Ehrenberg (1) u. a. (vergl. S. 190) widersprechen. Von der Mehrzahl der Forscher auf diesem Gebiete ist eben ohne die Gegenwart von Nitraten in der faulenden Masse die Entbindung freien Stickstoffs nicht beobachtet worden. Schon Dietzell (1) suchte die Stickstoffverluste in faulenden Massen durch Einwirkung der bei einem seiner Versuche (mit faulendem Harn) beobachteten Salpetrigsäure auf gebildete Amine oder Ammoniaksalze zu erklären. Dem schlossen sich Kellner und Yoshii (1) an, welche bereits die oben angeführte Anschauung vertraten. In König's Versuchen (1) waren die Stickstoffverluste faulenden Ledermehls um so größer, je größere Mengen Nitrite gebildet waren, und Tacke (1 u. 2) fand solche nur dann, wenn die zum Faulen ausgelegte Substanz Nitrate enthielt. Beim lagernden Stallmist ist aber, wie zuvor bereits erwähnt, Nitrifikation in ausgedehnterem Maße ziemlich unwahrscheinlich, jedenfalls noch nicht nachgewiesen. Nur da, wo der Stallmist mit Erdeinstreu gewonnen oder durch Zusatz von Erde konserviert wird, ist natürlich Nitrifikation und mit und nach ihr dann auch Denitrifikation möglich. Die von Ad. Mayer (1) beobachteten großen Stickstoffverluste eines mit Erdeinstreu gewonnenen Stallmistes (bis 55.5 Proz.) sind deshalb wohl zweifellos auf Denitrifikationsvorgänge zurückzuführen, zumal in den aufgestellten Schalen mit Schwefelsäure Ammoniak nur in geringer Menge (5—7 mg) gebunden wurde. Neue sorgfältige Untersuchungen über die Stickstoffverluste des Stallmistes, wobei auch die kritischen Bemerkungen P. Ehrenberg's (1) zu berücksichtigen sein würden, wären jedenfalls sehr dankbar und dankenswert.

Entsprechend der leichten Angreifbarkeit des Harnstickstoffs scheint in erster Linie dieser bei den Stickstoffverlusten des Düngers beteiligt zu sein. Das zeigt sich z. B. bei den Versuchen Dietzell's (2), in denen Gemenge von Kot mit Häcksel weit weniger Stickstoff verloren als solche von Harn mit Häcksel. Auch Kreuz und Gerlach (1) sahen die Kurve der Stickstoffverluste im Kot weit flacher verlaufen als im Harn oder in einem Gemenge von Harn und Kot. Dagegen scheint der Kot die Stickstoffverluste des Harnes zu vergrößern, sei es als Träger besonders verderblicher Mikroorganismen oder aus einem anderen Grunde physikalischer oder chemischer Natur.

Nur kurz sei erwähnt, daß die Mikroorganismen des Stallmistes zweifellos auch die Mineralstoffe in den Bereich ihrer Lebenstätigkeit einbeziehen, und daß sie z. B. Phosphorsäure aus organischer Bindung abzuspalten und in solche überzuführen vermögen, genau so wie den Stickstoff. Dasselbe gilt insbesondere auch vom Schwefel; auf einen Spezialfall der Tätigkeit in bezug auf den Schwefel wird auf S. 433 zurückzukommen sein.

§ 113. Die Konservierung des Stallmistes.

Es ist nur natürlich, daß man sofort, nachdem man sich der großen Verluste an Quantität und Qualität einigermaßen klar bewußt geworden

war, die der Stalldünger auf dem Wege vom Stall bis zum Acker erleidet, auch trachtete, diese zu verringern. Man suchte das Ziel auf den verschiedensten Wegen zu erreichen.

Da die Tätigkeit der Organismen im Stallmist es ist, welche die Verluste verursacht, so würde man durch Verhinderung dieser Tätigkeit am sichersten die Verluste vermeiden. Leider würden aber alle Mittel, welche die schädlichen Bakterien hemmen, auch die Tätigkeit der nützlichen nicht weniger in Mitleidenschaft ziehen und die so nötige Verrottung verhindern, auch auf dem Felde noch schädlich wirken. Ob das bei dem von BÖTTCHER (1) neuerdings für Desinfektion von Fäkalien ins Auge gefaßten Didymchlorid nicht der Fall ist, darf billig bezweifelt werden. Desinfektionsmittel werden im allgemeinen nur dort als notwendiges Uebel am Platze sein, wo hygienische Rücksichten sie fordern, ganz abgesehen davon, daß die Anwendung der meisten für den hier in Betracht kommenden Zweck zu teuer sein würde.

HILTNER (1) faßte einen Stallmistpilz ins Auge, welcher Ammoniak assimilierte, und den er daher für vielleicht geeignet hält, durch Bindung des entstehenden Ammoniaks nützlich zu wirken. Man könnte danach daran denken, durch Impfung oder geeignete Behandlung des Mistes das Wachstum dieses Pilzes und ähnlich wirkender zu fördern. Bei genauerer Ueberlegung erscheint das aussichtslos, zumal die Verluste an freiem Stickstoff auf diese Weise überhaupt nicht vermieden werden.

Weitaus am häufigsten sind gewisse Zusätze zum Stallmist als besonders geeignet zur Konservierung, vor allem des Stickstoffs, empfohlen worden, am meisten Gips, ferner Kainit und Carnallit, Schwefelsäure, Superphosphat und Superphosphatgips und viele andere. Die Mittel sollen z. T. bereits im Stall eingestreut werden. Schon E. WOLFF (1) untersuchte den Einfluß einer Beimischung von Holzkohle, Kalk und Gips und kam zu dem Ergebnis, daß Gipszusatz den Stickstoffverlust von 32,4 Proz. auf 22,5 Proz. herabsetzte. GROUVEN (1) fand durch Gipszusatz die Ammoniakverdunstung ebenfalls stark herabgesetzt. Noch günstiger wirkte der Gips in BIRNER und BRIMMER's Versuchen (1), indem er ebenso wie Kainit, Magnesiumsulfat, Kalk (CaO_2H_2: 2,5 Proz.) und Torfpulver (10 Proz.) den Stickstoffverlust überhaupt verhinderte, während der größte Verlust nach Zusatz von 1 Proz. kohlensaurem Kalk, 0,5 Proz. Kalkhydrat und 5 Proz. Torf eintrat, und der Verlust sehr gering war, wenn der Dünger vor Nässe geschützt aufbewahrt wurde. FITTBOGEN (1) fand ohne Zusatz bei Schafmist im Mittel nur 76,1 Proz. des ursprünglich vorhandenen Stickstoffs wieder, bei Zusatz von Kainit, Carnallit, Abfallsalz und Gips dagegen 91,3 Proz.; die Kalisalze wirkten etwas besser als der Gips, beeinträchtigten aber die Ammoniakbildung. TROSCHKE (1) fand bei Gipszusatz stärkeren Stickstoffverlust als bei Kainitzusatz. Bei den überaus mangelhaften Versuchen JOULIE's (1), der ganz abnorme Stickstoffverluste beobachtete, ergaben sich größere Verluste bei Zusatz von Gips und Calciumkarbonat als ohne Zusatz. Dagegen sah A. MAYER (1) wieder den Gips, wenigstens bei stärkerem Zusatz (1,5 Proz.), besser wirken als Eisenvitriol (0,75 Proz.). Geringe Mengen Gips (0,5 Proz.) wirkten sehr wenig. Auch in MAYER's Versuchen waren die Stickstoffverluste abnorm hoch. Sehr günstige Resultate erhielt dann HOLDEFLEISS (1) bei Zusatz von Kalisalz und Superphosphat-Gips und fand dieses Ergebnis noch neuerdings bestätigt (2), indem verloren hatten

Stalldünger ohne Zusatz	17,96 Proz.	des ursprünglich vorhandenen Stickstoffes
„ mit Kainit (2 Proz.)	6,27 „	
„ mit Superphosphat (2 Proz.)	6,75 „	

Dabei war im konservierten Dünger der Gehalt an Ammoniakstickstoff bedeutend höher; im Dünger ohne Zusatz war auch die Menge des „Eiweiß“-Stickstoffs am meisten vermindert. Nach HEIDEN (1) steht der Gips dem Superphosphatgips als Mittel zur Konservierung des Stallmiststickstoffs wenig nach. Als Konservierungsmittel für den Stickstoff in Jauche verwendete HEIDEN (2 u. 4) mit gutem Erfolge phosphorsäurehaltige Schwefelsäure, setzte indessen so viel zu, daß die Jauche sauer reagierte, und daß der Zusatz wohl antiseptisch gewirkt haben dürfte. J. H. VOGEL (1) sah gute Erfolge bei Zusatz eines Einstreumittels, das neben Schwefelsäure Phosphorsäure (beide gebunden an Kalk und Magnesia) enthielt, zu Torfstreu, die mit Harn getränkt war; der Stickstoffverlust wurde dadurch von 22,06 auf 2,93—8,45 Proz. zurückgedrängt. Erwähnt seien ferner die Versuche von SKUTETZKY (1), der mit Gips, Monocalciumphosphat und Superphosphatgips arbeitete, indes besondere Erfolge, derart daß sie die Kosten der Konservierung lohnten, nicht beobachten konnte. KRAUSE (1) prüfte verschiedene Zusätze zu Kuhharn: 1 Proz. Superphosphat hinderte jeden Stickstoffverlust, Superphosphatgips wirkte weniger vollständig, Kainit verringerte anfangs die Stickstoffverluste, die aber nach Eintritt der Gärung um so größer wurden, und auch vom Gips erwartet KRAUSE dasselbe. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam IMMENDORFF (1) für Stallmist: Superphosphat wirkte am besten und verzögerte die Ammoniakgärung ebenso, aber mehr als Kainit. Gips verzögerte die Gärung nicht und hinderte daher wegen seiner schweren Löslichkeit die Ammoniakverluste nicht so stark; gegenüber dem Verlust an freiem Stickstoff blieben Gips wie Kainit ziemlich ohne Wirkung. Etwas später findet IMMENDORFF (2) aber die Stickstoffverluste in Form von freiem Stickstoff unbedeutend gegenüber dem Entweichen von Ammoniak; im übrigen hält er an den Ergebnissen der früheren Versuche fest. MÜNTZ und GIRARD (1) fanden bei ihren Versuchen über die beste Art der Verwendung des Gipses bei täglichem Streuen im Stall Verluste von 34 Proz. des ursprünglichen Stickstoffgehalts, bei seltenerer Anwendung (jeden 4. oder 5. Tag) von 55 Proz., in beiden Fällen also hohe Verluste. BURRI, HERFELDT und STUTZER (1) bestätigten die bereits von HEIDEN gemachte Beobachtung, daß Ansäuern des Harns mit Schwefelsäure (0,4 Proz.) den Eintritt der Ammoniakgärung hindert, den Stickstoffgehalt also konserviert. Von anderen Mitteln fanden dieselben Forscher Gips für diesen Zweck unbrauchbar, ebenso Dicalciumphosphat; Kainit verzögert die Gärung, Phosphorsäure und Superphosphatgips wirken ähnlich wie freie Schwefelsäure und zwar auch wohl nur vermöge ihres Säurecharakters.

Eine größere Reihe von Arbeiten brachte das Jahr 1897. DIETZELL (2) fand in Laboratoriumsversuchen, daß mit Ausnahme von Dicalciumphosphat und Doppelsuperphosphat die geprüften Zusätze (Kainit, Gips, Schwefelsäure) gute Dienste leisteten, empfahl aber vor allem die später zu besprechenden mechanischen Mittel. PFEIFFER (1) und seine Mitarbeiter kommen auf Grund größerer Versuche zu dem Ergebnis, daß die Wirkung der Konservierungsmittel im allgemeinen voll von Widersprüchen ist und hinter der der mechanischen Pflege des Mistes zurücksteht. Verluste an freiem Stickstoff wurden durch Zusatz größerer Mengen von Superphosphat verhindert, durch Zusatz von geringeren

Mengen nicht. Aetzkalk oder kohlensaurer Kalk haben ähnlich gewirkt; die dadurch hervorgerufene Steigerung der Ammoniakabgabe war zu gering, als daß nicht der durch das Unterbleiben der Entbindung freien Stickstoffs hervorgerufene Vorteil überwogen hätte. Selbst ein
5 Zusatz von 1 Proz. Schwefelsäure hat aber die Ammoniakgärung nur wenig herabgedrückt. Nach WAGNER (1) endlich sind die üblichen Konservierungsmittel (Gips, Superphosphat, Kainit, Superphosphatgips, gebrannter Kalk), in dem üblichen Prozentsatz dem Miste zugesetzt, ohne merklichen Einfluß auf den Prozeß der Verrottung; nur mittelst freier
10 Schwefelsäure und Kupfervitriol konnte der Tätigkeit der Mistbakterien entgegengewirkt werden. Diese wenig erfreulichen Ergebnisse der Konservierungsbestrebungen wurden im Jahre 1898 von HANSEN und GÜNTHER (1) im wesentlichen bestätigt: Nur als Einstreu im Stall wirkten Superphosphatgips, Phosphat-Präcipitatgips und Gips in geringem
15 Grade stickstofferhaltend, und die Wirkung des behandelten Düngers war sogar nur einmal unter 6 Fällen besser als die des unbehandelten. Nach SCHNEIDEWIND (1) wirken Konservierungsmittel nur dann, wenn man sie in größeren Mengen anwendet; von Schwefelsäure muß um 0,5—1 Proz. mehr zugesetzt werden, als zur Neutralisation des Düngers
20 notwendig wäre. Aetzkalk hindert die Gärungen und bewirkt Umsetzung des gebildeten Ammoniaks in Eiweißstoffe und Salpeter. Calciumkarbonat und Soda konservieren gut, rufen aber starke Nitratbildung hervor. Vielfach wirkt der konservierte Dünger übrigens trotz seines höheren Stickstoffgehalts keineswegs besser als unbehandelter. Bei
25 weiteren Versuchen SCHNEIDEWIND's (2) wurde der Stickstoffverlust des Düngers von 26,6 Proz. herabgedrückt: durch 30 Proz. Mergel auf 9,9 Proz., durch 30 Proz. Mergel plus 2 Proz. Torfstreu auf 6.1 Proz., durch eine 1,5 Proz. Schwefelsäure entsprechende Menge Natriumbisulfat auf 1,3 Proz. LEONI (1) rühmt wieder die konservierenden Eigenschaften
30 der Schwefelsäure gegenüber Harn. O. MÜLLER (1) untersuchte ein Ferri- neben wenig Ferrosulfat und Schwefelsäure (5,4 Proz. SO_3) enthaltendes Desinfektionsmittel, das allerdings bei Anwendung in genügender Menge gründlich wirkte. ROGÓYSKI (1) prüfte in Laboratoriumsversuchen an je 6 kg Mist das Kieselfluorwasserstoffsäure und Schwefelsäure ent-
35 haltende Abfallprodukt einer Tonwarenfabrik (Zusatzmengen 0,25 und 1 Proz.), ferner Zusätze von Aetzkalk (3 Proz.), Erde (50 Proz.) und von letzteren beiden zusammen, mit dem Ergebnis, daß ein höherer Zusatz des sauren Abfallproduktes den Stickstoffverlust von 36,6 Proz. im unbehandelten Mist auf 4,7 herabsetzte, ein Zusatz von 0,25 Proz. aber
40 nur auf 25,76 Proz. Auch hier dürfte wesentlich die sauere Reaktion gewirkt haben. Der Kalkzusatz hatte in beschatteten Versuchsgefäßen besser gewirkt als in besonnten, seine Wirkung scheint also von Nebenumständen, besonders von der Temperatur abzuhängen. In den mit Kalk bezw. Abfallprodukt versetzten Mistportionen war übrigens lebhafte
45 Entwicklung von Fadenpilzen eingetreten, wodurch der Gehalt an Eiweißstickstoff in ihnen gestiegen war. Im Jahre 1901 fand WÜRZ (1) das bereits von ROGÓYSKI geprüfte Kieselfluorwasserstoffpräparat der Schwefelsäure gleichwertig; auch Natriumbisulfatzusatz bis zur sauren Reaktion erwies sich als sehr wirksam. Kalkzusatz, der sonst vielfach
50 als günstig sich gezeigt hatte, hinderte in REITMAIR's (1) Versuchen in einem Gemisch von Kot und Streu die Stickstoffverluste nicht. RIPPERT's (1) Empfehlungen seines Spezialmittels, das in zwei streubaren Pulvern, einem schwefelsäure- und einem fluorcalciumhaltigen, besteht,

wurde durch die Versuche von Schneidewind (4) sowie Gerlach und Vogel (1) der Boden entzogen. Pfeiffer (2) kommt bei sehr sorgfältiger Versuchsanstellung mit seinen Mitarbeitern zu dem Ergebnis, daß, sorgfältige mechanische Pflege des Mistes vorausgesetzt, Kainit und Superphosphatgips, in Mengen von 1,5 bezw. 2 kg pro 1000 kg Lebendgewicht der Tiere angewendet, bezüglich der Stickstoffverluste gänzlich wirkungslos sind, daß dagegen Schwefelsäure die Stickstoffverluste erheblich zu vermindern geeignet ist. Sulfarin, ein Präparat, das 15—20 Proz. freie Schwefelsäure enthält, schließt sich nach Schneidewind (3) in seiner Wirkung der Schwefelsäure an. Derselbe Forscher (4) fand bei Nachprüfung der alten Konservierungsmittel bei dreimonatlicher Lagerung des Mistes folgende Verluste in Prozenten des ursprünglichen Gehalts:

	Trockensubstanz	Gesamtstickstoff	Löslicher (schnell wirksamer) Stickstoff
Nicht konserviert	42,84 Proz.	35,69 Proz.	67,38 Proz.
Mit Gips (5 Proz.) versetzt	42,84 „	15,22 „	51,44 „
Mit Kalk (5 Proz.) versetzt, fest gelagert	45,42 „	35,89 „	66,50 „
„ „ „ „, locker gelagert	52,05 „	39,30 „	78,88 „

Kalk hat sich also als gänzlich unwirksam erwiesen, im Gegensatz zu früheren Versuchen desselben Verfassers. Gips war wohl wirksam; das Mehr an Stickstoff bestand indes wesentlich aus schwer löslichem Eiweißstickstoff, und zudem liegt bei Gipszusatz die schon von Troschke beobachtete Gefahr vor, daß sich durch Reduktion für den Pflanzenwuchs giftige Sulfide (Calcium- oder Ammoniumsulfid) bilden. Schon deshalb kann auch Gips nicht empfohlen werden. Auch Severin (6), der den Gips relativ günstig dahin beurteilt, daß er genügend wirkt, wenn ausschließlich Ammoniakgärung im Stallmist stattfindet, hebt doch hervor, daß diese Bedingung in der Praxis eben nicht verwirklicht ist. Severin hat mit Reinkulturen und sterilisiertem Mist gearbeitet und erwartet mit Recht nur von der Anwendung von Reinkulturen einzeln und in Kombination gründliche Aufklärung.

Das Fazit dieser und anderer sowie neuer eigener Versuche zieht Immendorff (3) in folgender Weise: Von allen Konservierungsmitteln des Stickstoffs haben nur Schwefelsäure und Superphosphatgips sich als tauglich erwiesen, und zwar nur dann, wenn sie in so großer Menge angewendet wurden, daß der Dünger während der ganzen Versuchszeit sauer reagierte. Geringere Mengen können sogar schädlich wirken, wie Maercker (2) und Böhme (1) zeigen. Diese Anwendung ist aber in der Praxis einerseits schwierig, andrerseits so kostspielig, daß man den Stickstoff, den man mit ihnen sich erhalten könnte, besser und billiger zukauft. Schon vorher hatte Wagner (2) sich ähnlich und sogar noch pessimistischer ausgesprochen, indem er der Ansicht Ausdruck gab, daß von den mit allerlei Kosten konservierten geringen Stickstoffmengen infolge der Verluste beim Ausbringen und Breiten des Düngers sowie im Boden nichts oder nur minimale Bruchteile den Pflanzen zugute kommen würden.

Empfehlenswert sind also allein billige Maßregeln. Dazu gehört vor allem die Verwendung der Torfstreu statt anderer Streumaterialien. Schon Birner und Brimmer hatten einen Zusatz von 10 Proz. Torfpulver günstig gefunden, und viele andere, z. B. Vogel, Krause, Schneidewind, ganz neuerdings 1906 insbesondere Immendorff, haben es bestätigt. In Immendorff's Versuchen hat reichliche Verwendung von

Torfstreu am besten gewirkt und die Stickstoffverluste auf 7,3 Proz. herabgedrückt. Auch bei praktischen Versuchen im großen hat sich die Torfstreu nach Sutthoff (1) und Hillmann (1) aufs beste bewährt. Erde, die in Holdefleiss' Versuchen (1889) als Mittel zur Bedeckung des Stallmistes Gutes geleistet hatte, hat sich nicht immer bewährt. Es sei an die bereits auf S. 429 erwähnten großen Verluste eines mit Erdeinstreu gewonnenen Stallmistes erinnert, die A. Mayer beobachtete (bis 55,5 Proz.!), und auch bei Rogóyski's Versuchen drückte Bedecken bezw. Durchmischen des Stallmistes mit Erde die Stickstoffverluste nur wenig, auf 18,8 bezw. 22,3 Proz., herab. Dazu kommt, daß bei Kompostierung der Exkremente und des Harns mit Erde auch die Verrottung der organischen Substanz viel zu weit fortschreitet, so daß die günstige Wirkung des Düngers auf die physikalischen Eigenschaften des Bodens zerstört wird.

Zur Verwendung der Torfstreu gesellt sich weiter als durchaus empfehlenswerte Maßregel eine geeignete mechanische Behandlung des Düngers. Da die Verluste um so größer sind, je besser die Luft Zutritt hat, so ist der Dünger fest zu lagern. Dem Einfluß der festen Lagerung verdankt der Tiefstalldünger (s. S. 420) wesentlich seine Güte. Holdefleiss wies im Jahre 1881 die günstige Beschaffenheit des Tiefstallmistes nach, und gleichzeitig Emmerling und Loges (1) sowie Biernatzki (1). Im Jahre 1889 fand Holdefleiss den Stickstoffverlust des Tiefstalldüngers zu nur 13 Proz., also recht niedrig. In neuerer Zeit hat insbesondere Maercker (1) die Vorzüge des Tiefstallmistes hervorgehoben. Ebenso soll auch auf der Düngerstätte der Mist gut gebreitet und dann etwa durch Vieh festgetreten oder gewalzt werden. Daß lockere Lagerung die Zersetzung und damit die Stickstoffverluste fördert, ist leicht einzusehen. Einen Beleg bilden die auf S. 433 mitgeteilten Werte, die Schneidewind für die Verluste von fest und locker gelagertem, sonst gleich behandeltem Mist erhielt. Ferner soll der Mist stets gleichmäßig feucht, doch nicht zu feucht sein und ist zu diesem Zwecke vorsichtig mit Jauche zu berieseln, ohne daß diese allzusehr mit der Luft in Berührung kommt. Aus dem Flachstall wird nach Pfeiffer's (2) Versuchen der Mist am besten täglich entfernt, was auch Immendorff (3) bestätigt. Nach Schneidewind (1) erreicht man durch Festtreten und Feuchthalten des Stallmistes mehr als mit unvollkommen angewendeten chemischen Mitteln. Für die Jauche gilt natürlich dasselbe. Nach Krause (1) wirkte möglichst guter Luftabschluß am besten gegen die Stickstoffverluste derselben, und das ist auch von allen Forschern bestätigt worden. Oel, mit dem Heiden (3) die Jauche bedeckte, hindert ebenfalls die Ammoniakverdunstung.

Das Feuchthalten des Stallmistes mit Jauche wirkt nach Dehérain und Dupont (2) dadurch so günstig auf die Erhaltung des Stickstoffs, weil die alkalische Reaktion der Jauche das Auftreten der Methangärung im Mist befördert, das der Wasserstoffgärung hindert. Nur bei dieser soll freier Stickstoff entstehen können. Der Stickstoffentbindung durch Oxydation wirkt die feste Lagerung ohnedies entgegen.

In gewissem Gegensatz zu dieser Ansicht hat sich aber in neueren Versuchen Immendorff's (3) die getrennte Aufbewahrung von Mist und Jauche sehr bewährt. Sie ist bereits von Dietzell (2) ins Auge gefaßt worden. Die Jauche hält dabei infolge ihres Wasserreichtums das Ammoniak zurück, wenn sie bedeckt gehalten und Luftwechsel möglichst ausgeschlossen wird. Nebenbei bemerkt, könnte man dann auch die Kon-

servierung der Jauche mit genügend Schwefelsäure in Anwendung bringen, zumal nach Böhme (1) der Stickstoff so konservierten Harns von den Pflanzen sehr gut ausgenutzt wird; man muß dabei allerdings von den oben berührten praktischen Bedenken gegen die Anwendung der Schwefelsäure absehen. Inwieweit die auch von Soxhlet empfohlene getrennte Aufbewahrung von strohigem Mist und Jauche in der Praxis durchführbar ist, muß die Zukunft lehren.

Endlich hat Dehérain (2) mit Rücksicht darauf, daß in einer an Kohlensäure reichen Atmosphäre die Dissociation des Ammoniumkarbonats schwächer ist als in einer an jenem Gase ärmeren, darauf aufmerksam gemacht, daß möglichste Förderung der Kohlensäure entwickelnden Gärung in Verbindung mit fester Lagerung des Stallmistes, letztere um das Entweichen des Gases zu erschweren, geeignet sein müsse, die Stickstoffverluste in Form von Ammoniak zu verhindern. Im Einklang damit fand Severin (7), daß bei seinen Gärungsversuchen mit Harn und Jauche Ammoniak erst dann entwich, wenn die Kohlensäure-Entwicklung aufgehört oder doch wesentlich nachgelassen hatte. Schneidewind hat im Anschluß daran vorgeschlagen, den Mist nicht direkt auf den Boden der Düngergrube zu lagern, sondern auf diesem eine Lage alten gärenden Mistes zu belassen und darauf den neuen Dünger zu bringen. Ein erster Versuch Schneidewind's (4) setzte den Stickstoffverlust allerdings nur von 35,69 Proz. auf 32,47 Proz. herab. Um so besser aber wirkte die Maßregel in einem zweiten Versuche (5), wo nur 16,94 Proz. des Stickstoffs verloren gingen gegenüber 30,31 Proz. in direkt auf dem Boden der Düngergrube gelagertem Mist. Auf das von Dehérain aufgestellte Prinzip sind wohl auch die von Barthel (1) neuerdings gemachten, zunächst irrig gedeuteten Beobachtungen zurückzuführen, nach denen der Zusatz eines Milchzucker und Milchsäurebakterien enthaltenden „Säureweckers“ zu Kuhkot konservierend wirkte. Später fand Barthel (2) einen Milchzuckerzusatz allein schon wirksam. Sein Vorschlag, diese Beobachtung praktisch auszunutzen, indem man den Milchzucker in Form von Molken geben könne, dürfte indes wohl keine praktische Anwendung finden.

Uebrigens dürften nicht nur für die chemischen Konservierungsmittel sondern auch für die anderen Maßnahmen zur Erhaltung des Stallmiststickstoffs die auf S. 433 bereits kurz skizzierten Erwägungen und Bedenken Wagner's (2) gelten.

Literatur

zum Kapitel Mykologie des Düngers.

*Almquist, E., (1) Z. f. Hyg., 1905, Bd. 52, S. 178. *Barthel, Chr., (1) Deutsche landw. Presse, 1906, Bd. 33, S. 212. — (2) Ebenda, S. 262. *Bary, A. de, (1) Vergl. Morphol. und Physiol. der Pilze. 2. Aufl., Leipzig 1884. *Baur, E., (1) Archiv f. Protistenkunde, 1904, Bd. 5, S. 92. *Behrens, J., (1) Arb. d. Deutsch. Landw.-Ges., Heft 64, Berlin 1901. *Biernatzki, W., (1) Der Norddeutsche Landwirt, 1881, Nr. 18; cit. n. König (1). *Birner und Brimmer, (1) Wochenschr. der pommerschen ök. Ges., 1881, Nr. 3; cit. n. König (1). *Böhme, E., (1) Ill. landw. Ztg., 1904, Bd. 24, Nr. 87—89; ref. in Biedermanns Centralbl., 1905, Bd. 34, S. 300. *Böttcher, (1) Deutsche landw. Presse, 1905, Nr. 99; ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 16, S. 272. *Burri, R., Herfeldt, E., und Stutzer, A., (1) J. f. Landwirtschaft, 1894, S. 329; 1895, S. 1. *Cohn, F., (1) Ueber die Wärmeerzeugung durch Schimmelpilze u. Bakterien. Vortrag, gehalten etc. zu Brieg a. 15. 6. 1890; ref. in Kochs Jahresb., 1890, Bd. 1, S. 40. *Dehérain, P. P., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1884, Bd. 98, S. 377; Bd. 99, S. 45. — (2) Ebenda, 1898, Bd. 126, S. 202. — (3) Ebenda, 1898, Bd. 127, S. 469. *Dehérain,

P., und **Dupont,** C., (1) Ann. agron., 1899, Bd. 25; ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 233. — (2) Ebenda, 1900, Bd. 26, S. 273. — (3) Ebenda, 1901, Bd. 27, S. 401. ***Dietzell,** B. E., (1) Landw. Versuchsstationen, 1897, Bd. 48, S. 163. — (2) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1882, Bd. 15, S. 551. ***Dupont,** C., (1) Ann. agron., 1902, Bd. 28, S. 289. ***Ehrenberg,** A., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1886, Bd. 11, S. 145 u. 438. ***Ehrenberg,** P., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 15, S. 154. ***Emmerling,** A., und **Loges,** G., (1) Mitteilungen d. landwirtsch. u. milchwirtsch. Versuchsstation Kiel, 1881, S. 10. ***Ermann,** D., (1) Ueber e. Methode z. Feststellung d. in d. menschlichen Faeces enthaltenen Gewichtsmengen v. Bakterien. Dissert., Bonn 1902. ***Fittbogen,** J., (1) Biedermanns Centralbl., 1882, S. 368. ***Gayon,** U., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1884, Bd. 98, S. 528. ***Gerlach** und **Vogel,** (1) Fühlings landw. Ztg., 1903, Bd. 52, S. 409. ***Gibson,** H. B., (1) American Chem. Journ., 1893, Bd. 15; ref. in Kochs Jahresb., 1893, Bd. 4, S. 237. ***Grouven,** (1) Cit. n. Stutzer (1). ***Hansen,** Em. Chr., (1) Fungi fimicoli Danici. Medd. fra den naturhist. Foren. i Kjöbenhavn, 1876. ***Hansen,** J., und **Günther,** A., (1) Arb. der Deutsch. Landw.-Ges., Heft 30, Berlin 1898. ***Heiden,** E., (1) Sächs. landw. Zeitschr., 1885, Nr. 29/30; cit. n. König (1). — (2) Chem.-Ztg., 1886, S. 1226. — (3) Ber. ü. d. Tätigkeit d. Versuchsstation Pommritz, 1888. — (4) Biedermanns Centralbl., 1889, S. 794. ***Heinrich,** R., (1) II. Bericht ü. d. Verhältnisse und Wirksamkeit der landw. Versuchsstation zu Rostock. Berlin 1894. ***Hellriegel,** H., (1) Chem. Ackersmann, 1855, S. 87; 1865, S. 39; cit. n. König (1). ***Herfeldt,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1895, Bd. 1, S. 74. ***Herzberg,** G., (1) Untersuchungen ü. hitzebeständige Keime in Faeces. Dissert., Erlangen 1899. ***Hillmann,** K., (1) Landw. Wochenschr. f. d. Prov. Sachsen, 1904, Bd. 6, S. 112. ***Hiltner,** L., (1) Deutsche landw. Presse, 1901, S. 203. ***Holdefleiss,** Fr., (1) Untersuchungen ü. d. Stallmist. Breslau 1889. — (2) Mitteilungen der landw. Institute der Kgl. Univ. Breslau, 1899, Bd. 1, Heft 2, S. 233; 1900, Heft 3, S. 49. ***Hüfner,** G., (1) J. f. prakt. Chem., 1876, Bd. 13, S. 292. ***Jentys,** S., (1) Bulletin de l'Acad. des sciences de Cracovie, 1893, S. 303; ref. in Kochs Jahresb., 1893, Bd. 4, S. 238. ***Immendorff,** H., (1) Landw. Jahrbücher, 1892, Bd. 21, S. 281. — (2) J. f. Landwirtschaft, 1894, Bd. 42, S. 69. — (3) Verhandlungen d. Winterversammlung 1906 der Deutschen Landw.-Ges. Sonderabdr. aus Jahrb. d. D. L.-G., 1906, Bd. 21, S. 49. ***Joulie,** H., (1) Ann. agron., 1884, S. 298. ***Kellner,** O., und **Yoshii,** T., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1888, Bd. 12, S. 95. ***Kern,** H., (1) Arb. a. d. bakteriol. Inst. d. techn. Hochsch. Karlsruhe, 1897, Bd. 1, S. 379. ***Klein,** A., (1) Arch. f. Hyg., 1902, Bd. 45, S. 117. ***König,** J., (1) Wie kann der Landwirt den Stickstoffvorrat in seiner Wirtschaft erhalten und vermehren? 3. Aufl., Berlin 1893. ***König,** J., und **Kiesow,** J., (1) Landw. Jahrbücher, 1873, Bd. 2, S. 107. ***Krause,** H. **von,** (1) J. f. Landwirtschaft, 1890, Bd. 38, S. 1. ***Kreuz** und **Gerlach,** (1) Jahresber. d. landw. Versuchsstation Jersitz-Posen 1898/99. Posen 1901. ***Lawes** und **Gilbert,** (1) Philos. Transact., 1861, Part II, S. 497. ***Leoni,** A. M., (1) Staz. sperim. agrar. ital., 1898, Bd. 31, S. 209; ref. in Kochs Jahresb., 1898, Bd. 9, S. 217. ***Lewin,** E., (1) Skand. Arch. Physiol., 1904, Bd. 16, S. 249; ref. in Chem. Centralbl., 1905, Bd. I, S. 943. ***Lindau,** G., (1) Hilfsbuch für das Sammeln der Ascomyceten. Berlin 1903. ***Maercker,** M., (1) II. Bericht ü. d. Tätigkeit d. agrikulturchem. Versuchsst. Halle. Halle a/S. 1895; ref. in Biedermanns Centralbl., 1895, Bd. 24, S. 734. — (2) Jahrb. d. agrikulturchem. Versuchsst. Halle, 1896, Bd. 2, Berlin 1897. ***Matzuschita,** T., (1) Arch. f. Hyg., 1901, Bd. 41, S. 105. ***Mayer,** Ad., (1) J. f. Landwirtschaft, 1886, S. 167. ***Metschnikoff,** O., (1) Ann. Pasteur, 1901, Bd. 15, S. 631. ***Morgen,** A., (1) Landw. Versuchsstationen, 1883, Bd. 30, S. 199. ***Müller,** O., (1) J. f. Landwirtschaft, 1898, Bd. 46, S. 207. ***Müller-Thurgau,** H., (1) Landw. Jahrbücher, 1888, Bd. 17, S. 83. ***Müntz,** A., und **Girard,** A. Chr., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1893, Bd. 115, S. 1318; Bd. 116, S. 1062. ***Neubauer,** Jos., (1) Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk., 1905, Bd. 31. ***Nuttall,** H. F., und **Thierfelder,** H., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1896, Bd. 21, S. 109. ***Omelianski,** W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1905, Bd. 15, S. 673. ***Oppenheimer,** (1) Z. f. physiolog. Chem., 1904, Bd. 41, S. 3. ***Pfeiffer,** Th., (1) Landw. Versuchsstationen, 1897, Bd. 48, S. 189. — (2) Arbeiten d. Deutsch. Landw.-Ges., Heft 73, Berlin 1902. ***Quehl,** Alfr., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 16, S. 9. ***Reiset,** J., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1856, Bd. 42, S. 53. ***Reitmair,** O., (1) Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich, 1902, Bd. 5, S. 1107. ***Rippert,** (1) Fühlings landw. Ztg., 1903, Bd. 52, S. 248. ***Rogóyski,** C., (1) Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich, 1899, Bd. 2, S. 391. — (2) Verh. d. Akad. d. Wiss. Krakau, 1900; ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 342 u. 778. ***Sauvageau,** C., und **Radais,** M., (1) Ann. Pasteur, 1892, Bd. 6, S. 242. ***Schellmann,** W., (1) Ueber Hippursäure vergärende Bakterien. Dissert., Göttingen 1902. ***Scherpe,** R., (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1899, Bd. 15, S. 387. ***Schittenhelm** und **Schröter,** (1) Z. f. physiolog. Chem., 1903, Bd. 40, S. 70. ***Schloesing,** Th., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1889, Bd. 109, S. 835. ***Schloesing,** Th., Vater und Sohn, (1) Ann. agron., 1892, Bd. 18, S. 85.

*Schneidewind, W., (1) J. f. Landwirtschaft, 1897, Bd. 45, S. 173. — (2) Neue Ztschr. f. Rübenzuckerind., 1898, Bd. 40, S. 216. — (3) Deutsche landw. Presse, 1903, Bd. 30, S. 861. — (4) Landw. Jahrbücher, 1904, Bd. 33, S. 165. — (5) Deutsche landw. Presse, 1904, Bd. 31, S. 625. *Schottelius, M., (1) Arch. f. Hyg., 1899, Bd. 34, S. 210; 1902, Bd. 42, S. 48. *Severin (auch: Sewerin), S. A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1895, Bd. 1, S. 97. — (2) Ebenda, S. 799. — (3) Ebenda, 1897, Bd. 3, S. 504. — (4) Ebenda, 1897, Bd. 3, S. 628. — (5) Ebenda, 1901, Bd. 7, S. 369. — (6) Ebenda, 1904, Bd. 11, S. 389. — (7) Ebenda, 1904, Bd. 13, S. 616. *Skutetzky, G., (1) Mitteil. d. Vereins zur Förderg. d. landw. Versuchsw. in Oesterreich, 1889, Bd. 4, S. 113. *Strassburger, J., (1) Ztschr. f. klin. Medizin, 1902, Bd. 46, S. 413. *Stutzer, A., (1) Die Behandlung u. Anwendung d. Stalldüngers. Berlin 1903. *Stutzer, A., und Hartleb, R., (1) Mitteil. d. kgl. landw. Institute d. Universität Breslau, 1899, Bd. 1, Heft 1, S. 108. *Sutthoff, M., (1) Deutsche landw. Presse, 1903, S. 175. *Tacke, B., (1) Landw. Jahrbücher, 1887, Bd. 16, S. 917. — (2) Landw. Versuchsstationen, 1887, Bd. 33, S. 465. *Troschke, H., (1) Biedermanns Centralbl., 1884, S. 670. *Ulpiani, C., und Cingolani, M., (1) Atti R. Acad. dei Lincei, Roma, 1905, 5. ser., Bd. 14, II, S. 596 (ref. in Chem. Centralb., 1906, Bd. I, S. 694). *Voelcker, A., (1) Journ. of the Royal Agric. Soc. of England, 1856, Bd. 18, S. 191. *Vogel, J. H., (1) J. f. Landwirtschaft, 1888, Bd. 36, S. 247. — (2) Arbeiten d. Deutschen Landw.-Ges., Heft 1, Berlin 1894. *Wagner, P., (1) Landw. Versuchsstationen, 1897, Bd. 48, S. 247. — (2) Arbeiten d. Deutschen Landw.-Ges., Heft 98, Berlin 1904, S. 28. *Weiske, H., (1) J. f. Landwirtschaft, 1889, Bd. 36, S. 439. *Wolff, E., (1) Naturgesetzliche Grundlagen des Ackerbaues. 3. Aufl., 1856. — (2) Landw. Versuchsstationen, 1859, Bd. 1, S. 123. *Würz, W., (1) Beiträge z. Frage d. Konservierung u. Erhaltung d. Stalldüngers. Dissert., Leipzig 1901. *Wüthrich, E., und Freudenreich, E. von, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1895, Bd. 1, S. 873. *Zopf, W., (1) Die Pilze. Breslau 1890.

(Manuskript-Einlauf: 13. Juni 1906).

17. Kapitel.

Mykologie des Bodens.

Von Prof. Dr. J. Behrens.

§ 114. Die Höhe des Keimgehaltes des Bodens.

Der Boden im hier gebrauchten Sinne ist die oberste Schicht der Erdrinde, soweit sie fähig ist, Pflanzen hervorzubringen. Bei dem landwirtschaftlich benutzten Boden unterscheidet man die Ackerkrume als die vom Pflug bewegte und Zersetzungsprodukte von Pflanzenresten 5 und tierischen Rückständen in größerer Menge enthaltende, dadurch vielfach auch dunkler gefärbte obere Lage von dem an organischen Stoffen ärmeren, darunter liegenden Untergrunde.

Daß im Boden ein reiches Leben herrscht, lehrt zum Teil bereits die unmittelbare Beobachtung. Durch die wühlende, grabende und 10 bohrende Tätigkeit zahlreicher Tiere, unter denen insbesondere die Regenwürmer nach zahlreichen Untersuchungen, die von Ramann (1) zusammengefaßt worden sind, eine wichtige Rolle spielen, wird der natürliche Boden stetig bewegt, gelockert und durchlüftet, auch dort, wo der Pflug nie hinkommt, z. B. auf der Wiese und im Walde. Daß der Boden aber 15 auch der Wohnplatz und die Stätte der Tätigkeit überaus zahlreicher Mikroorganismen ist, bis zu einem gewissen Grade die natürliche zeitweilige Herberge für die bei weitem meisten derselben, das ist zunächst durch Untersuchungen im hygienischen Interesse mehr und mehr klar geworden. Nach Pettenkofer's Theorie sollte für die Entstehung von 20 Epidemien der Zustand des Bodens besonders maßgebend sein, indem

nur unter gewissen Verhältnissen es möglich sei, daß die Infektionserreger einmal sich im Boden in Masse entwickelten und ferner aus dem Boden in die Luft gelangten. Dieser Theorie verdanken wir zahlreiche Untersuchungen über das Vorkommen und die Verbreitung der hygienisch in erster Linie, fast allein in Betracht kommenden Bakterien im Boden.

Ein relativ einfaches Mittel, die Zahl der Bakterien im Boden festzustellen und die Arten so zu isolieren, bot die von Rob. Koch ausgearbeitete Methode der Plattenkultur. Mit Hilfe von Gelatineplatten fand R. Koch (1) die verschiedensten Berliner Böden zu jeder Jahreszeit überaus reich an Bakterien, unter denen die Stäbchenformen meist vorwalteten. Nach der Tiefe zu nahm der Bakteriengehalt des Bodens schnell ab, und bereits in 1 m Tiefe war der gewachsene Boden nahezu keimfrei. Zu ähnlichen Resultaten gelangten u. a. Beumer (1), Reimers (1), Eberbach (1), Fülles (1) und insbesondere Fraenkel (1), dem wir die sorgfältigste und eingehendste Untersuchung über den Bakteriengehalt des Bodens verdanken. Die Tiefenstufe, auf der der Keimgehalt des Bodens Null wird, wurde durch die Untersuchungen von Fraenkel und Fülles sehr viel tiefer gelegt: Fülles fand bei 1 m Tiefe freilich ein ganz bedeutendes Fallen der Keimzahl bis um das Hundertfache, aber auch in 2 m Tiefe im Durchschnitt noch immer 17000 Keime im ccm gegen 70000 bis 6000000 in den oberflächlichen Schichten. Miquel (2) fand in Pariser Kirchhofsböden, z. B. auf dem Friedhof Père Lachaise, wo oberflächlich 19 Millionen Keime pro Gramm Trockensubstanz gezählt worden waren, in 2 m Tiefe sogar noch 5400000 und glaubt, daß für solche Böden, welche an organischen Nährstoffen reich sind, das Gesetz der schnellen Abnahme des Organismengehalts mit zunehmender Tiefe überhaupt nicht gültig ist. Weitere Zählungen mit Hilfe der Gelatineplattenmethode verdanken wir insbesondere Caron (1), Burri (1), Hohl (1), sowie Hiltner und Störmer (1), ohne daß damit eine erschöpfende Aufzählung der Keimbestimmungen im Boden mit Hilfe der Plattenmethode gegeben wäre. Wir lassen einige Zahlen über den Keimgehalt verschiedener Böden folgen. Es wurden gefunden:

im Waldboden, oberflächlich	im Durchschnitt	600000	Keime im ccm (Fülles)
„ „ , 1 m tief	„ „	128000	„ „ „ „
„ Weinbergsboden, Ackerkrume	„ „	1050000	„ „ „ „
„ „ , 1 m tief	„ „	46000	„ „ „ „
„ Wiesenboden, oberflächlich	„ „	1400000	„ „ „ „
„ „ , 1 m tief	„ „	134000	„ „ „ „
„ Ackerboden, oberflächlich	„ „	1500000	„ „ „ „
„ „ , 1 m tief	„ „	330000	„ „ „ „
„ Ackerboden nach Getreide im Herbst	„ „	1100000—2700000	„ „ „ (Caron)
„ Ackerboden während Schwarzbrache im Herbst	„ „	12500000	„ „ „ „

Außerordentlich große Zahlen (bis zu 50950000 im g Erde!) fanden Hiltner und Störmer in der Ackerkrume ihres Versuchsfeldes. Wir werden auf die Untersuchungen Caron's sowie Hiltner's und Störmer's, die im landwirtschaftlichen Interesse angestellt worden sind, auf S. 464 zurückzukommen haben. Die Plattenmethode haben auch Fabricius und Hj. von Feilitzen (1) benutzt, die nachwiesen, daß auf den Bakteriengehalt von Moorboden Kalkung, Besandung, Bearbeitung und Düngung, insbesondere Stallmistdüngung, sehr günstig wirkt, und daß der Keimgehalt durchaus parallel läuft mit der Bewegung der Bodentemperatur.

Ueber die Mikroflora des Wald- und Moorbodens haben Ramann, Remelé, Schellhorn und Krause (1) mit Hilfe der Methoden der

Plattenkultur Untersuchungen angestellt, mit dem Ergebnis, daß die Fadenpilze in sauer reagierenden Böden eine weit größere Rolle spielen als in Ackerböden.

Ueber die **Methodik** der **Bakterienzählung** im **Boden** mit Hilfe der Plattenkulturen haben Hiltner und Störmer (1) sowie Thiele (1) sich verbreitet. Indessen ist die Methode, wie schon die Ueberlegung zeigt, keineswegs geeignet, ein richtiges Bild von dem Kleinleben im Boden zu geben; vergl. Behrens (2). Einmal entziehen sich alle auf Gelatine und anderen derartigen Nährböden überhaupt nicht, und ebenso alle bei Sauerstoffzutritt nicht wachsenden Mikroben der Zählung. Ferner werden von Fadenpilzen eigentlich nur die Sporen gezählt. Endlich gelangt nur der kleinste Teil der vorhandenen Organismen zur Keimung und zum Wachstum, weil überaus zahlreiche Keime zugrunde gehen, weil andere wenigstens nicht keimen, und weil ein großer Teil gar nicht von den Bodenteilchen abgelöst wird. Man vergleiche auch die auf S. 417 gemachten Ausführungen über die Bakterienzählungen im Kot.

Noch weit unbrauchbarer als die Methode der Plattenkultur sind allerdings die von Miquel (1) und die von Adametz (1) benutzten Methoden der Keimzählung. Miquel verdünnte wässerige Aufschwemmungen der Erde so weit, daß bei Impfung von Kulturkolben mit je einem Tropfen der Verdünnung nicht mehr alle Kolben infiziert wurden, daß also nicht mehr auf jeden Tropfen ein Keim kam, und berechnete daraus den Keimgehalt, der nach eigener Korrektur (2) um das Dreifache sogar hinter den bei Gelatineplattenkultur gefundenen Zahlen zurückblieb. Ebenso ungenau ist das von Adametz benutzte Verfahren der direkten Keimzählung in Filtraten von Bodenaufschwemmungen.

Hiltner und Störmer (1) suchten das Verfahren der Plattenkultur zu verfeinern, indem sie die sich entwickelnden Kolonien nicht nur zählten, sondern auch zu bestimmen versuchten, um so einen Einblick in die physiologischen Leistungen der gefundenen Organismen zu erhalten. Sie unterschieden zu diesem Zweck zunächst nur die drei Klassen der streptothrixartigen, der verflüssigenden und der nichtverflüssigenden Kolonien. Der Gedanke an sich ist natürlich durchaus richtig. Indes scheitert seine konsequente Durchführung und Vertiefung nicht nur an der praktischen Unmöglichkeit, sondern insbesondere auch daran, daß gerade die wichtigsten Organismen der Ackerkrume (nitrifizierende, stickstoffbindende usw. Organismen) bei der Plattenkultur sich nicht entwickeln. Die von Hiltner und Störmer als bescheidener erster Anfang gewählte Unterscheidung ist übrigens natürlich durchaus ungenügend.

Wie Löhnis (4) gezeigt hat, gibt eine andere von Hiltner und Störmer (1) herrührende Methode weit höhere Zahlen als die Plattenmethode. Hiltner und Störmer schlagen vor, sich zur Bestimmung der Zahl der einer bestimmten physiologischen Gruppe angehörigen Bakterien der elektiven Kultur (s. Bd. I, S. 305) in Verbindung mit einer Verdünnung des Aussaatmaterials zu bedienen. Sie beimpfen Nährlösungen gewisser Zusammensetzung, für Zählung von Harnstoffbakterien z. B. Harnstoff, für Zählung von Denitrifikationsbakterien Salpeter, für Zählung von Pektinvergärern Pektin enthaltend, mit verschiedenen Verdünnungen des Bodens, stellen nach Einimpfung je eines Kubikzentimeters jeder Verdünnung die Grenze fest, bis zu der noch Harnstoffgärung, Denitrifikation, Pektingärung usw. in der Nährflüssigkeit eintritt, bei der also noch wenigstens 1 Keim in je 1 ccm der betreffenden Verdünnung vor-

handen ist, und berechnen unter dieser Annahme die Zahl für 1 g. Löhnis fand mit Hilfe dieser Methode in 1 g eines Bodens, in dem nach der Plattenmethode (Bodenextraktgelatine) 1270000 Keime gefunden worden waren, 3750000 Pepton zersetzende, 50000 Harnstoff vergärende, 50000 denitrifizierende, 7500 nitrifizierende und 25 (in Mannitlösung) freien Stickstoff bindende Bakterien, und in einem anderen Boden mit 1040000 gelatinewüchsigen Keimen waren die entsprechenden Zahlen 5000000, 50000, 50000, 2500 und 750.

Indessen auch diese Methode ist nicht nur ungemein langwierig und beschränkt in ihrer Anwendung, sondern auch höchst unsicher. Die Abstufungen der Verdünnungen müßten ungemein zahlreich sein, um nur einige Sicherheit zu gewähren, daß an der Grenze eben nur ein entwicklungsfähiger Keim in der Impfflüssigkeit vorhanden war, nicht schon eine Mehrzahl, und sie teilt mit der Plattenkulturmethode überdies den Mangel, daß schon bei Herstellung der Verdünnungen (s. Bd. I, S. 442) zahlreiche lebensfähige Keime zugrunde gehen. Für gewisse Zwecke ist sie jedenfalls durchaus tauglich. Aber brauchen wir denn überhaupt eine genaue Methode der Keimzählung im Boden? Die Antwort lautet: Nein. Es kommt nicht auf die Zahl der Keime im Boden an, sondern auf ihre Leistungen, auf die Intensität und Art ihrer Tätigkeit, wie Löhnis (1) mit Recht im Anschluß an Conn (1) hervorhebt.

Vielleicht wäre bereits die Bestimmung der in der Zeiteinheit in einem Boden gebildeten Kohlensäure ein nicht ungeeigneter Maßstab für die Leistungen der Bodenorganismen. Indes fehlen darüber noch nähere Untersuchungen, welche auch zeigen müßten, ob die Menge der Kohlensäure bei Verwendung handlicher Bodenmengen nicht zu gering ist, als daß die Unterschiede merkbar wären.

Von anderer Seite her hat Remy (1) die Frage in Angriff genommen. Er impft gleiche Mengen verschiedener Bodenarten, die in bezug auf ihre bakteriologischen Eigenschaften verglichen werden sollen, in entsprechend zusammengesetzte Lösungen, z. B. um die eiweißzersetzende Kraft der Böden zu vergleichen, in peptonhaltige, um das Denitrifikationsvermögen zu prüfen, in salpeterhaltige, um die Nitrifikation zu vergleichen, in mineralische ammoniakhaltige, zum Studium der Stickstoffbindung in stickstofffreie mannithaltige Nährlösung. Nach gewisser Zeit wird dann in allen geimpften Kolben die Leistung des Bodens durch Bestimmung des gebildeten Ammoniaks, des noch vorhandenen bezw. des gebildeten Salpeters und des gebundenen Stickstoffs geprüft. Remy verwendet, was auch Löhnis (1) als geeignet fand, je 10 g Erde auf 100 ccm Nährlösung. Bei Verwendung kleinerer Mengen Impferde fand Löhnis vielfach das Bedenken von Hiltner und Störmer gegen diese Methode bestätigt, daß nämlich die Organismen, deren Entwicklung erstrebt wird, von anderen überwuchert werden. Ob diese außer von den genannten Forschern auch von Ehrenberg (1) sowie Wohltmann, H. Fischer und Schneider (1) benutzte Methode alles leisten wird, was man von der Zählmethode vergeblich erwartete, wird die Zukunft lehren. Zunächst vermeidet sie es, Organismen, welche wenig leisten, z. B. schwache Ammoniakbildner, anderen leistungsfähigeren gleich zu zählen, und sie hat ferner zweifellos bereits tatsächliche Beziehungen zwischen der Fruchtbarkeit und dem „bakteriellen Zustande“ von Böden aufgedeckt, was die Zählmethode bisher nicht geleistet hatte. Daß die Methode mit gehöriger Kritik angewendet werden muß, ist selbstverständlich. Auf gewisse Vorsichtsmaßregeln, welche insbesondere bei

der Bestimmung der eiweißzersetzenden Kraft des Bodens beobachtet werden müssen, hat neuerdings EHRENBERG (2) aufmerksam gemacht: Hier muß zur Bestimmung des gebildeten Ammoniaks die gesamte Menge Nährflüssigkeit nebst dem Boden verwendet werden, da bei Untersuchung abpipettierter Flüssigkeitsmengen die Ammoniakabsorption durch den 5 Boden das Ergebnis fälschen würde. BUHLERT und FICKENDEY (1) suchen ganz neuerdings die Methode noch dadurch zu verbessern, daß sie große Mengen einer Aufschwemmung von viel Boden in wenig Wasser (300—500 g Boden in 300—500 ccm Wasser) zu entsprechenden Mengen der verschiedenen Lösungen setzen, z. B. 5 bezw. 20 ccm der klaren 10 Aufschwemmung zu 10 bezw. 250 ccm Nährlösung. Für die Prüfung der Leistung des Bodens in Eiweißspaltung und Denitrifikation verwenden sie das erstere, für die Prüfung der Stickstoffbindung und der Nitrifikation das letztere Verhältnis. Während die Verfasser bei Einhaltung der REMY'schen Methode vielfach Mangel an Uebereinstimmung 15 bei Parallelversuchen beobachteten, war das bei ihrer überdies bequemeren Methode, welche die Abwägung kleiner Bodenmengen vermeidet und durch Abpipettierung ersetzt, nicht der Fall. Kleine Bodenproben sind aber auch bezüglich ihrer Flora vielfach ungleichmäßig. Es sei nur darauf hingewiesen, daß z. B. ein Wechsel des Gehalts an 20 Feinerde ganz selbstverständlich auch Unterschiede im Keimgehalt zur Folge hat: Bodenstellen, die an Steinen und Steinchen reich sind, können bei ganz gleicher Verteilung der Organismen auf dem Felde nicht so viele Keime enthalten, wie die an Feinerde reicheren Partien. Auf andere Ursachen der Ungleichmäßigkeit wird auf S. 443 einzugehen sein. 25

§ 115. Qualitative Zusammensetzung der Mikroflora des Bodens.

Unter den im Boden anzutreffenden Mikroorganismen können wir solche unterscheiden, welche nur als zufällige und vorübergehende Gäste oder nur in gewissen Jahreszeiten den Boden als Wohnstätte benutzen, und andere, welche wir als regelmäßige normale Bewohner des Bodens 30 zu betrachten haben. Zu den ersteren gehören gerade viele gelatinewüchsige Organismen aus der Zahl der Bakterien, insbesondere die große Mehrzahl der für Mensch und Tier pathogenen Bakterien, unter denen die Erreger von Milzbrand, Cholera, Typhus, ferner das *Bact. coli* erwähnt sein mögen. Eine Aufzählung gibt MATZUSCHITA (1). Daß die Hefen 35 während des größten Teiles des Jahres ihren Aufenthalt im Boden nehmen, ist auf S. 154 des Vierten Bandes festgestellt worden. Es gehören zu den vorübergehenden Bewohnern des Bodens aber auch manche Erreger von Pflanzenkrankheiten, die im Boden den Winter überdauern und zum Teil das Nichtgedeihen gewisser Pflanzen auf daran reichen Böden, eine Art 40 Müdigkeit, hervorrufen können. Es wird auf S. 447 darauf kurz zurückzukommen sein.

Die echten Bodenbewohner können wir unter zwei Gesichtspunkten ins Auge fassen, nach ihrem Verhalten bei Deckung ihres Kohlenstoffbedarfs und nach der Art der Deckung ihres Stickstoffbedarfs. In beiden 45 Beziehungen unterscheiden wir prototrophe und metatrophe und unter letzteren autotrophe und heterotrophe Organismen (vergl. Bd. I, S. 306 bis 307). Die bis jetzt einzigen sicheren Vertreter der Autotrophie in bezug auf die Kohlenstoffernährung sind die nitrifizierenden Bakterien (s. 5. Kap.); vielleicht gehören dahin auch die Eisen- und Schwefelbak- 50

terien, wenigstens zum Teil (s. 7. u. 8. Kap., S. 193 u. 224). Prototroph, und zwar in bezug auf den Stickstoff, sind nur die im 1. Kapitel abgehandelten freien Stickstoff bindenden Organismen sowie die im 2. Kapitel behandelten Lebensgemeinschaften gewisser Mikroorganismen mit höheren 5 Pflanzen, besonders die Knöllchen besitzenden Leguminosen.

Die in bezug auf den Kohlenstoff heterotrophen Bodenbewohner sind natürlich in ihrer Ernährung auf die Kohlenstoffverbindungen, die organische Substanz des Bodens, angewiesen, die in sehr verschiedener Menge und Form in den einzelnen Bodenarten vorhanden ist. Es wird 10 im § 117 darauf näher einzugehen sein.

Nach ihrer Einwirkung auf den gebundenen Stickstoff des Bodens sind solche Organismen zu unterscheiden, welche organische Stickstoffverbindungen in einfachere spalten, schließlich Ammoniak bilden (s. 3. u. 4. Kap., S. 71 u. 85), die nitrifizierenden Organismen (s. S. 132), die denitri- 15 fizierenden (s. 6. Kap., S. 182) und endlich solche Bodenbewohner, welche aus Ammoniak und aus Nitraten bei Gegenwart von Kohlenstoffverbindungen wieder Eiweißstoffe aufzubauen vermögen. Auf die Schicksale des Stickstoffs im Boden werden wir im § 118 zurückzukommen haben.

20 Außer manchen der schon im vorhergehenden Paragraphen citierten Autoren haben insbesondere Gottheil (1) und Neide (1) sehr sorgfältig eine Anzahl sporenbildender Bakterien des Bodens beschrieben, welche zweifellos sowohl an der allmählichen Umwandlung und Verbrennung der organischen Substanz des Bodens als auch am Abbau der 25 organischen Stickstoffverbindungen teilnehmen. Eine Anzahl Fadenpilze hat bereits Adametz in der Ackerkrume nachgewiesen. Neuerdings hat Oudemans (1) die Pilzflora eines humosen Bodens sehr eingehend studiert; vergl. Bd. IV, S. 232—233. Es sei ferner auf die Arbeit von Koning (2) verwiesen, auf die wir später zurückkommen werden.

30 Ueber die Art und Weise, wie die Mikroorganismen im Boden sich verbreiten, sind wir nur sehr wenig unterrichtet. Sicher ist die Wanderung wesentlich eine passive. Durch Wachstum und aktive Bewegung kann eine Verbreitung nur in sehr beschränktem Maße stattfinden. Wie die Untersuchungen von A. Pfeiffer (1) im Gegensatz zu denen von Soyka (1) 35 gezeigt haben, sind kapillare Wasserströmungen im Boden nicht imstande, Bakterien zu verschleppen, und nach den übereinstimmenden Ergebnissen aller Forscher, welche sich mit dem Gegenstande beschäftigt haben, u. a. auch Naegeli's (1) sowie der beiden genannten, ist das noch viel weniger mit Luftströmungen der Fall. Für die Besiedelung organismenarmer 40 Böden kommt also zunächst die Infektion der Oberfläche mit Keimen, die durch Luftströmungen dahin gebracht werden, in Betracht. Ueber die Rolle, welche selbst unmeßbare und nicht einmal wahrnehmbare Luftströmungen als Träger von Keimen spielen, verdanken wir insbesondere Flügge (1) sorgfältige Untersuchungen. Die Verbreitung in 45 die tieferen Bodenschichten besorgen dann wohl hauptsächlich wühlende und grabende Tiere. Nur kurz sei darauf hingewiesen, daß im landwirtschaftlichen Betriebe der Stallmist und der Kompost neben ihrer düngenden Wirkung vielfach wohl auch als Träger von Organismenkeimen, als Impfmaterial für den Boden wirken werden.

50 Es ist schon im vorhergehenden wiederholt betont worden, daß im normalen Boden der Keimgehalt im allgemeinen mit der Tiefe abnimmt, im einen Boden schneller, im anderen langsamer. In sauren Böden, z. B. Moorboden, ist, wie ebenfalls bereits erwähnt wurde, die Mikro-

flora eine andere als in neutralen Kulturböden, und durch Kalkzusatz kann die Mikroflora der sauren Böden stark geändert werden. Von wesentlicher Bedeutung ist jedenfalls der Reichtum des Bodens an organischer Substanz: Je mehr davon vorhanden und je mehr davon als Nahrung brauchbar ist, um so zahlreicher und üppiger werden die metatrophen Bodenbewohner sich entwickeln. Gedüngter Ackerboden wird also im allgemeinen an gelatinewüchsigen Organismen reicher sein als ungedüngter. Nach einer Düngung mit Gülle (Jauche) oder Harn werden zunächst die Harnstoffbakterien sich massenhaft entwickeln, die später von den Nitrifikationserregern abgelöst werden, wenn nicht bei gleichzeitiger Gegenwart genügender Kohlenstoffquellen Organismen die Oberhand gewinnen, die den Ammoniakstickstoff wieder in organische Bindung überführen. Daß zum Gedeihen und zur Tätigkeit der Bodenorganismen ein genügender Feuchtigkeitsgehalt des Bodens notwendig ist, erscheint als selbstverständlich, und ebenso leuchtet es ohne weiteres ein, daß bei übergroßem Wassergehalt infolge des dann eintretenden Luftmangels die Zahl der aerobiotischen Arten zurückgehen und von anaerobiotischen Formen überwuchert werden wird. In ähnlicher Weise muß der Lockerungsgrad des Bodens wirken. Endlich haben die Untersuchungen von Wohltmann, H. Fischer und Schneider (1) wahrscheinlich gemacht, daß auch die Düngung einen Einfluß auf den bakteriellen Zustand eines Bodens hat. Sie fanden die relative Fäulniskraft (Intensität der Peptonzersetzung), die Nitrifikations- und die Denitrifikationskraft des Bodens nach Remy's Methode am stärksten auf den mit Kalk gedüngten Parzellen, am schwächsten auf den ungedüngten und den mit schwefelsaurem Ammoniak gedüngten, während die Parzellen mit Stallmistdüngung eine gute Mittelstellung einnahmen. Auch war der stickstoffsammelnde *Azotobacter chroococcum* (s. S. 8) nach H. Fischer (3) auf den gekalkten Parzellen jedenfalls sehr viel häufiger als auf den nichtgekalkten; es gelang nur — und zwar leicht — von den gekalkten Böden durch Anhäufungskultur mit Mannitlösung und folgende Plattenkultur den *Azotobacter* rein zu kultivieren. Dieser Organismus scheint nach H. Fischer für sein Gedeihen einen minimalen Kalkgehalt von vermutlich ca. 0,1 Proz. zu verlangen. Daß die Ueberfrucht einen wesentlichen Einfluß auf die Bodenflora ausübt, hat bereits Caron (1 u. 2) nachgewiesen. Er fand im Herbst die Zahl der gelatinewüchsigen Bakterien in Millionen pro ccm Boden

	nach Schwarzbrache	nach Klee	nach Hafer
1892	10—15	5	1—2
1893	8—10	5—6	1—1,5
1894	2— 3	?	0,5—1
1896	3— 4	2—3	0,4—1

Remy (1) warnt allerdings auf Grund seiner Untersuchungen vor einer Ueberschätzung des Einflusses der Ueber- und Vorfrucht. Bekannt und leicht verständlich ist, daß Leguminosen den Boden an Keimen der Knöllchenbakterien reich zurücklassen.

Auch die bakteriell abnormen Böden von Klein-Eichholz und Büttgenbach, die Remy (1 u. 4) zuerst untersucht hat, geben ein gutes Beispiel für den Einfluß des Bodenklimas, der äußeren Verhältnisse, auf den Boden ab, nachdem Ehrenberg (1) die Abnormität der Mikroflora wesentlich auf den Mangel an Kalk in beiden Böden zurückführen konnte. Die Aufmerksamkeit Remy's wurde auf beide Böden gelenkt, weil auf ihnen die Kulturpflanzen eigenartige Wachstumstörungen zeigten. Senf und

Lupinen erwiesen sich dabei am allerempfindlichsten: auch Erbsen, Wicken, Hafer und Gerste litten stark. Die Prüfung des Bodens nach REMY's Methode ergab, daß beide Böden nur in geringem Maße die Befähigung besaßen, Pepton bis zu Ammoniak zu spalten: ebenso zeigten 5 sie geringes Denitrifikationsvermögen in nach GILTAY und ABERSON bereiteter 0,2-proz. Salpeterlösung, ferner schwache Befähigung, in OMELIANSKI'scher Ammoniaklösung Nitrit und in Nitritlösung Nitrat zu bilden, sowie endlich geringe Stickstoffsammlung in stickstofffreier Mannitlösung, nach BEIJERINCK bereitet. Hinter normalen Böden blieben die beiden 10 abnormen in allen diesen Punkten weit zurück. Impfung mit den verschiedenen physiologischen Klassen von Organismen (denitrifizierenden, Azotobacter, nitrifizierenden, ammoniakbildenden) änderte an dem abnormen Verhalten des Bodens gegenüber Kulturpflanzen nichts, ebensowenig Zusatz von Glassand und Gründüngung. Wohl aber war Kalk- 15 zufuhr (Aetzkalk oder kohlensaurer Kalk) sowie Stallmist auf beiden Böden von günstigster Wirkung: Gekalkter und mit Stallmist gedüngter Boden trug normale Ernten und zeigte auch bei der Prüfung seiner bakteriellen Eigenschaften ein normales Verhalten. Dieser Erfolg wurde durch gleichzeitige Impfung mit Bakterien nicht gesteigert. EHRENBERG 20 kommt schließlich zu dem Ergebnis, daß das abnorme bakterielle Verhalten des Bodens wesentlich von der Kalkarmut und der sauren Reaktion der Böden herrührte. Wurde diesen Mängeln durch Zufuhr von Kalk oder kalkhaltigen, alkalisch reagierenden Düngern abgeholfen, so gediehen nicht nur die grünen Pflanzen besser, sondern auch die kleinsten 25 Bodenbewohner.

§ 116. Die Beziehungen der Bodenmikroben zu den höheren Pflanzen.

Wir haben bereits auf S. 443 erwähnt, daß die Bodenflora der Ackerkrume u. a. auch von der Fruchtart beeinflußt wird, mit welcher der 30 Acker bestellt ist. So fand CARON unter Rotklee den von ihm untersuchten Boden reicher an Keimen als unter Getreide und bei Brache noch reicher als unter Rotklee. Das hängt wohl zum Teil mit dem nach der Ueberfrucht wechselnden Wassergehalt des Bodens zusammen. Von besonderem Interesse aber ist, daß nach CARON (1) mit steigender 35 Keimzahl auch die Fruchtbarkeit des Bodens steigt: Nach Brache beobachtete er stets reichere Erträge der folgenden Halmfrucht als nach Klee oder gar nach Halmfrucht selbst. Das deutet darauf hin, daß hier ganz eigenartige Beziehungen zwischen Bodenorganismen und höheren Pflanzen bestehen, Beziehungen, deren Klarlegung noch nicht gelungen ist.

40 Es erscheint ja selbstverständlich, daß die Erträge steigen werden, wenn etwa Zahl und Tätigkeit der stickstoffsammelnden oder der nitrifizierenden Bakterien eine Steigerung erfahren haben, oder wenn durch irgendwelche Verhältnisse die Zahl und Tätigkeit schädigender Mikroben, etwa denitrifizierender oder Nitrate wieder als Bakterien- bezw. Pilz- 45 substanz festlegender Organismen, zurückgedrängt wird. Das ist z. B. wahrscheinlich der Fall bei den sog. Hexenringen, die man auf Wiesen vielfach beobachtet: Auf mehr oder weniger geschlossenen Ringen beobachtet man ein üppiges Gedeihen des Grases, während innerhalb des Ringes der Stand des Grases dürftiger ist und außen an 50 den Ring eine Zone dürftigsten Wachstums grenzt. Ursache dieser

Erscheinung ist das Wachstum gewisser größerer Pilze, meist Hymenomyceten (z. B. *Clitocybe nebularis* BATSCH, *Hydnum suaveolens* SCOP., *Marasmius sp.*, *Tricholoma gambosum*), ferner der Boviste und einiger Ascomyceten (*Spathularia*), deren Mycel von einer Stelle aus im Boden sich kreisförmig verbreitet. Wo im Vorjahr die Fruchtkörper des Pilzes gestanden haben, ist das Gras durch deren Verwesungsprodukte gedüngt und zu üppiger Entwicklung gebracht, während weiter nach außen das fortwachsende Mycel des Pilzes dem Grase die Bodennahrung, besonders den Stickstoff, entzieht und als Pilzsubstanz festlegt. Die Zone üppigsten Graswachstums wandert also alljährlich um eine Strecke nach außen in der Richtung des Radius. STAHL (1), der die Bildung der Hexenringe so erklärt, hat auch experimentell nachgewiesen, daß im pilzfreien (sterilisierten) Buchenwaldhumus, also ohne Konkurrenz von Bodenpilzen, Pflanzen wie Senf, Flachs, Weizen weit besser gedeihen als in nichtsterilisiertem, in welchem die Pilze des Waldhumus ihnen den Stickstoff streitig machen. Weitere Literatur über Hexenringe findet man bei THOMAS (1); vergl. auch WEHMER (1).

Aber ganz abgesehen von diesem Einfluß auf die Ernährung wirken die Bodenorganismen auf das Gedeihen der grünen Pflanzen teils günstig, teils ungünstig ein. Schon LAURENT (1) zeigte, daß in dem von ihm benutzten Boden (Gartenerde) die Bodenorganismen das Gedeihen der Versuchspflanze (Buchweizen) wesentlich beeinflußten: Im sterilisierten Boden ohne Zusatz war die Entwicklung am geringsten, etwas gebessert wurde sie durch Begießen mit sterilisierter Nährlösung, sie erreichte aber auch in diesen Töpfen bei weitem nicht die Ueppigkeit, wie im natürlichen (unsterilisierten) und im sterilisierten, aber nachträglich mit den Bakterien der natürlichen Erde geimpften Boden. Dieses Ergebnis deutet auch darauf hin, daß die Erklärung LAURENT's, wonach die Förderung des Buchweizens bei Gegenwart der Bodenorganismen auf Förderung der Ernährung beruhen sollte, nicht richtig sein kann, jedenfalls nicht allein genügt. Es hätte sonst der Zusatz von Nährlösung ebenso gut wirken müssen, wie die Gegenwart der Bakterien. Ebenso erhielt FRANK (1) durch Impfung sterilisierten und mit den nötigen Nährsalzen versehenen Bodens mit wenig Naturboden, der vorher die Versuchspflanze getragen hatte, Mehrerträge bei Gerste und Tabak. CARON (1) beobachtete Mehrerträge in Naturboden bei Impfung mit den verschiedensten Bodenbakterien, insbesondere mit dem Alinitbazillus, der später noch zu behandeln sein wird. STOKLASA (2 u. 3) bestätigte die Erfolge einer Alinitimpfung in sterilisiertem wie in unsterilisiertem Boden und sah solche auch bei Impfung sterilen Bodens mit den verschiedensten anderen Bakterien (*Bacillus mycoides*, *B. fluorescens liquefaciens*, *B. proteus vulgaris*, *B. subtilis*, *B. butyricus*, *B. ureae*, *B. mesentericus vulgatus* und *Bact. coli commune*). Die bei diesen keineswegs einwandsfreien und nicht einmal der inneren Widersprüche entbehrenden Versuchen erhaltenen Ergebnisse bestätigte dann HILTNER (1). Nach ihm übt fast jede beliebige Bakterienart einen — freilich nicht immer günstigen — Einfluß auf das Pflanzenwachstum aus. Wurde der Ertrag der ungeimpften Erde gleich 100 gesetzt, so war der Ertrag der Impfung

	mit Alinit	*Bacillus a*	*Bacillus b*	*Bacillus c*
in sterilisierter Erde	109	118,5	126,7	131,1
in nicht-sterilisierter Erde	100,7	117,2	105,3	140,7

Selbst denitrifizierende (*b*) und Nitrat zu Nitrit reduzierende (*c*) Organismen wirkten bei HILTNER's Versuchen günstig. Dagegen wirkte in

Schulze's Versuchen (1) sowohl in sterilisiertem wie in nicht-sterilisiertem Boden eine Impfung mit dem Alinit-Bazillus ungünstig auf den Ertrag ein.

Die Ergebnisse der verschiedenen Forscher lassen sich also wohl dahin zusammenfassen, daß in organismenfreiem Boden das Wachstum der grünen Pflanzen im allgemeinen weniger gut ist als in nicht-sterilisiertem normalem Boden. Das Gegenteil behauptet aber Richter (1), der seine Versuchspflanzen in sterilisiertem Boden auf die Dauer (nach anfänglicher Schädigung) stets besser gedeihen sah als in nicht-sterilisiertem und das mit Hilfe des von ihm geführten Nachweises erklären will, daß beim Sterilisieren (durch intermittierendes Erwärmen 3 Tage je 6 Stunden lang auf 100° im strömenden Dampf) ein Teil des unlöslichen Bodenstickstoffs löslich wird, und daß überhaupt die Menge der wasserlöslichen anorganischen und besonders organischen Substanz eine Vermehrung erfährt. Schulze (2) führte dann den Nachweis, daß im sterilisierten Boden zwei einander entgegengesetzt wirkende Faktoren auf die Pflanze einwirken, ein begünstigender, den schon Richter beobachtet hatte, und ein schädlich wirkender, das Vorhandensein mehr oder weniger giftiger Zersetzungsprodukte, die sich beim Sterilisieren durch feuchte Wärme bilden, am reichlichsten im Wiesenboden, weniger reichlich im Acker- und noch weniger im Gartenboden, und gegen die verschiedene Versuchspflanzen auch verschieden empfindlich sind. Senf und Buchweizen erwiesen sich viel empfindlicher als Hafer. Je nachdem nun die — übrigens durch Kalkzusatz aufzuhebende — schädliche Wirkung des Sterilisierens die nützliche Wirkung der Bodenaufschließung überwiegt oder nicht, ist bald eine Schädigung, bald eine Begünstigung des Pflanzenwachstums im sterilisierten Boden die Folge, ohne daß dabei die Bodenorganismen beteiligt wären. Neuerdings hat Kosaroff (1) die Frage nach der Wirkung des Erhitzens auf den Boden durch eine Untersuchung über die Biologie des Discomyceten *Pyronema confluens* gefördert, der bekanntlich auf Brandstellen mit Vorliebe erscheint, und der nach Kosaroff's Beobachtungen nur auf sterilisierter Erde wächst. Ein Auszug aus unsterilisierter Erde hemmt sein Wachstum, während man andererseits auch den sterilisierten Boden durch Auswaschen mit Wasser wieder ungeeignet für *Pyronema* machen kann. Die Wirkung des Erhitzens konnte allerdings auch durch eine Düngung des Bodens mit 5 Proz. Kainit ersetzt werden. Im übrigen zeigte der Pilz ein ähnliches Verhalten wie die grüne Pflanze in Schulze's Versuchen: In sterilisierter Lauberde gedieh er nicht, in sterilisierter Dahlemer Ackererde mäßig gut, kräftig dagegen auf einer Mischung von gleichen Teilen Lauberde, Dahlemer Boden und Sand. Also auch hier kamen die beiden antagonistischen Wirkungen der Sterilisation zur Beobachtung.

Worauf die übereinstimmend von Laurent, Frank und anderen beobachtete Begünstigung des Gedeihens höherer Pflanzen durch Gegenwart von Bodenorganismen zurückzuführen ist, wissen wir nicht. Ausgedehntere Untersuchungen darüber wären sehr wünschenswert. Als selbstverständlich erscheint es, daß für das Gedeihen solcher Pflanzen, die auf Symbiose mit Pilzen oder Bakterien mehr oder weniger angewiesen sind, nur solche Böden geeignet sind, welche Keime des pilzlichen Symbionten enthalten. Dahin gehören die obligaten Mykorrhizen-Pflanzen und die Leguminosen. Neuerdings nimmt Hiltner (3) an, daß die Wurzeln der Pflanzen einen Einfluß auf die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Mikroflora ihrer Umgebung im Boden, innerhalb

der „Rhizosphäre“, ausüben, und daß umgekehrt auch ihr Gedeihen und das der Nachfrucht von der Zusammensetzung der Rhizosphärenflora beeinflußt wird. Darauf wird noch bei der Betrachtung der Erscheinungen der **Bodenmüdigkeit** zurückzukommen sein, denen wir uns jetzt zuwenden.

Wenn eine Pflanze auf einem Boden nicht mehr gedeihen will, so kann das entweder in einem Mangel an irgendwelchen Nährstoffen, an einer Erschöpfung des Bodens seinen Grund haben. So erklärt beispielsweise Kutzleb (1) die Kleemüdigkeit der Wingendorfer Aecker als Folge einer Erschöpfung des Untergrundes an Kali. Nach Bogdanoff (1) ist auch die Rübenmüdigkeit des Bodens in manchen Fällen auf eine Erschöpfung desselben, speziell an Phosphorsäure, zurückzuführen. In anderen Fällen wird die Bodenmüdigkeit durch die Gegenwart von tierischen oder pilzlichen Feinden der betreffenden Kulturpflanze hervorgerufen. So erkannte Kühn (1) als Verursacher einer anderen Rübenmüdigkeit eine parasitische Nematode. Kleemüdigkeit kann von der Gegenwart der parasitischen *Sclerotinia trifoliorum* im Boden herrühren. Die Flachsmüdigkeit wird nach Bolley (1) von *Fusarium lini* hervorgerufen. Nach Hiltner (2) ist der Reichtum gewisser Böden an pektinvergärenden Bakterien die Ursache, daß manche, besonders größere Leguminosensamen (Erbsen, Lupinen usw.) auf solchen Böden nicht aufgehen, sondern faulen. Besonders verletzte Körner sind, wie auch Jarzymowski (1) bestätigt, dem Befall durch diese Bodenbewohner ausgesetzt. Auch scheinen nach Hiltner's und Peters' (1) Untersuchungen sowie nach Sigmund (1) gewisse Bewohner des Bodens bei den Keimlingskrankheiten der Zucker- und Runkelrübe mitzuwirken, wenn auch Linhart (1) jedenfalls mit Unrecht die allgemein verbreiteten Bodenbakterien *Bacillus mycoides*, *B. fluorescens liquefaciens*, *B. mesentericus vulgatus* als alleinige Urheber verdächtigt. Endlich steht, nachdem die alte Theorie, die Bodenmüdigkeit rühre von Wurzelausscheidungen her, welche für die ausscheidende Pflanze selbst schädlich, für andere Pflanzen aber indifferent seien, wohl allgemein verlassen ist, die Mikroflora des Bodens im Verdacht, Müdigkeit des Bodens für gewisse Pflanzen auch ohne ausgesprochen parasitären Befall derselben hervorrufen zu können. Hiltner (3) ist, wie eben bereits erwähnt wurde, der Meinung, daß unter dem Einfluß der Wurzelausscheidungen sich in einer engeren oder weiteren Zone um die Wurzeln jeder Pflanze herum, in der sogen. Rhizosphäre, eine eigenartig zusammengesetzte Bodenflora herausbilde. Am dichtesten sei die Ansiedlung solcher spezifischer Organismen in unmittelbarer Nähe der Wurzel, in deren äußere Schichten die Bakterien vielfach sogar sich eindrängen, eine Bakteriorhiza bildend. Ist diese aus nützlichen Bodenorganismen zusammengesetzt, so erscheint das für die Pflanze vorteilhaft, mindestens unschädlich. Anders, wenn sich ungebetene Gäste einstellen. Dann kann, wie Hiltner an Erbsen bei drittmaligem Anbau auf dem gleichen Boden sah, sich ausgesprochene Bodenmüdigkeit einstellen. Die weißen Wurzeln sahen schwammig aus und waren auf der Oberfläche stark von Bakterienkeimen mannigfaltigster Art besetzt. Beim vierten Anbau ging die Müdigkeit merkwürdigerweise zurück und war beim fünften Anbau verschwunden: Die früher weißen Wurzeln waren jetzt auffallend gebräunt, aber innerlich weiß und durchaus gesund und „es ließ sich nachweisen, daß nunmehr eine regelrechte Bakteriorhiza vorhanden war, die, gebildet durch angepaßte nützliche Bakterien, das weitere Eindringen der schädlichen Organismen verhinderte.“ Etwas eingehender haben

an anderem Orte HILTNER und STÖRMER (1) diese Erscheinung behandelt. Eine ausführliche Darstellung steht jedoch noch aus. Auf eine Beteiligung von Bodenorganismen bei dem Zustandekommen des Zustandes der Bodenmüdigkeit deutet ein Beobachtung ALFR. KOCH's (3) hin, nach 5 der durch die Sterilisation wohl in rebenmüdem, nicht aber in normalem Boden die Rebenentwicklung gefördert wurde.

Die Bodenmüdigkeit steht im Vordergrunde des Interesses, seit OBERLIN (1) darauf aufmerksam machte, daß man die Bodenmüdigkeit der Weinberge, die in den meisten Weinbaugegenden zu einem regel- 10 mäßig periodisch wiederkehrenden mehrjährigen Aussetzen des Weinbaues zwingt, durch eine Behandlung des Bodens mit Schwefelkohlenstoff mit Erfolg bekämpfen kann. OBERLIN suchte die Erklärung in der giftigen Wirkung des Schwefelkohlenstoffs auf tierisches und pflanzliches Leben im Boden, denkt also augenscheinlich an die Vernichtung 15 von Schädlingen im Boden, wirft aber bereits die Frage auf, woher es komme, daß Klee, der doch auf Knöllchenbakterien angewiesen ist, in kleemüder Erde nach Schwefelkohlenstoffbehandlung wieder gut und normal wachse, auch Knöllchen bilde trotz dieser Wirkung. A. KOCH (1, 2, 3), der im Auftrage der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft die 20 Frage näher untersuchte, kommt zu dem Ergebnis, daß die Schädigung der Bodenorganismen bei der Schwefelkohlenstoffwirkung überhaupt keine Rolle spielt, daß die Förderung des Pflanzenwuchses vielmehr die Folge einer unmittelbaren Reizwirkung des Schwefelkohlenstoffs (bezw. seiner Umsetzungsprodukte im Boden) auf die grüne Pflanze sei. Dem- 25 entsprechend ist der Schwefelkohlenstoff keineswegs ein spezifisches Mittel gegen Bodenmüdigkeit: seine Wirkung tritt auch in sterilem Boden ein und steigert sich mit der Größe der Schwefelkohlenstoffgabe. Die Bakterien werden durch den Schwefelkohlenstoff überhaupt nicht sämtlich getötet. CHAUDON DE BRIAILLES (1) suchte die günstige Wir- 30 kung des Schwefelkohlenstoffs durch die von ihm beobachtete, auf eine anfängliche Verlangsamung folgende Förderung der Nitrifikation infolge einer Schwefelkohlenstoffbehandlung zu erklären, eine Förderung, die wohl als Spezialfall der von KOCH beobachteten Reizwirkung aufzufassen ist, und die überdies von PAGNOUL (1) nicht beobachtet wurde. Ebenso 35 erscheint als solcher Spezialfall die von FRUWIRTH (1) beobachtete Förderung der Knöllchenbildung bei Leguminosen nach Schwefelkohlenstoffbehandlung. NOBBE und RICHTER (2) bestätigen ebenfalls neuerdings die Richtigkeit der KOCH'schen Erklärungsweise der Schwefelkohlenstoffwirkung und beobachten gleiche Wirkung auch bei Verwendung von 40 Aether, Chloroform u. dergl.

Der von KOCH begründeten Anschauung widersprach zunächst WOLLNY (2), der indes insofern KOCH zustimmt, als auch nach den Ergebnissen seiner Versuche die Bakterien und Pilze des Bodens durch Schwefelkohlenstoff nur zeitweise, aber nicht dauernd, in ihrer Lebens- 45 tätigkeit gehemmt werden. Die Hypothese der Reizwirkung verwirft er, weil seiner Ansicht nach der Schwefelkohlenstoff zu bald wieder aus dem Boden verschwindet. HILTNER und STÖRMER (1) halten sich mit einer Würdigung der KOCH'schen Ansicht weiter nicht auf, sondern ziehen daraus, daß einerseits die Pflanzen nach einer Schwefelkohlen- 50 stoffbehandlung des Bodens ein dunkleres Grün und üppigeres Wachstum zeigen, und daß andererseits die Schwefelkohlenstoffbehandlung gewisse Veränderungen der gelatinewüchsigen Bodenflora hervorruft, den Schluß, daß es sich bei der Wirkung des Schwefelkohlenstoffs im Grunde um

eine Stickstoffwirkung handeln müsse. Nach ihnen hat die Schwefelkohlenstoffbehandlung zunächst eine in den Einzelfällen verschieden starke Verminderung der Zahl der gelatinewüchsigen Keime zur Folge, von der die *Streptothrix*-Arten am meisten, die Gelatine verflüssigenden Formen (Sporen?) am wenigsten oder gar nicht betroffen werden. Dieser Verminderung folgt nach einiger Zeit ein um so rapideres Ansteigen der Keimzahl, an der hauptsächlich die nichtverflüssigenden Formen beteiligt sind, während die Streptotricheen zurückgedrängt bleiben. Noch später nähern sich allmählich die Verhältnisse mehr und mehr wieder den ursprünglichen, ohne daß diese allerdings selbst zwei Jahre nach der Schwefelkohlenstoffbehandlung wiederhergestellt wären. Die Zahl der Keime des *Bac. mycoides* blieb bei den Versuchen HILTNER's und STÖRMER's konstant. Aehnlich verhielten sich die Pektinvergärer. Die denitrifizierenden Arten wurden fast ganz vernichtet und waren selbst zwei Jahre nachher noch schwach vertreten. Aus PAGNOUL's und WOLLNY's Arbeiten ist ferner zu schließen, daß auch die Nitrifikation durch Schwefelkohlenstoff stark beeinträchtigt wird. Danach erklären HILTNER und STÖRMER die Wirkung des Schwefelkohlenstoffs in folgender Weise: Durch Stickstoffsammlung oder Aufschließung von Bodenstickstoff durch Ammoniakbildner (verflüssigende Bakterien), die wenig oder nicht geschädigt werden, werden der Pflanze beträchtliche Mengen von Stickstoff zugänglich. Verluste durch Denitrifikation sind wegen der Vernichtung der denitrifizierenden, durch Auswaschen wegen der Decimierung der nitrifizierenden Organismen ausgeschlossen. Uebrigens beobachteten HILTNER und STÖRMER von einer Schwefelkohlenstoffbehandlung bei Erbsen auch höchst nachteilige Wirkungen: Es handelte sich hier um die in ursprünglich erbsenmüder Erde in vierter Generation gezogenen Erbsen mit gebräunten, mit Bakteriorhiza versehenen Wurzeln; hier wirkte der Schwefelkohlenstoff schädlich, weil er die Bakteriorhiza, die Schutzorganismen gegen die Verursacher der Bodenmüdigkeit, zurückdrängte. Dementsprechend waren die Wurzeln der in behandelter Erde gezogenen schwachen und siechen Pflanzen weiß und mit blasigen Auftreibungen besetzt, die wie die Oberhautzellen mit Bakterien angefüllt waren.

Die Unterdrückung der denitrifizierenden Bakterien hatte nun allerdings WAGNER mit seinen Mitarbeitern (1) in Stallmist nicht beobachten können, und auch A. KOCH (5) selbst vermochte neuerdings selbst mit größeren Mengen von Schwefelkohlenstoff dem Boden seine Fähigkeit, Salpeter unter Stickstoffentbindung zu zersetzen, nicht zu nehmen. Wie HEINZE (3) berichtet, konnten KRÜGER und HEINZE auch die von HILTNER als erste Wirkung des Schwefelkohlenstoffs beobachtete Abnahme des Keimgehalts nicht bestätigen, sondern nur das spätere gewaltige Ansteigen; außerdem bestätigten ihre Untersuchungen aber die anfängliche Unterdrückung und dauernde Verzögerung der Nitrifikation, und ferner wurde eine Zunahme des Stickstoffgehalts im Boden als Folge der Schwefelkohlenstoffbehandlung beobachtet. *Azotobacter* wird durch Schwefelkohlenstoff direkt gefördert, ebenso die Bodenalgen aus der Klasse der Cyanophyceen. So kommt auch HEINZE trotz vielfach abweichender Ergebnisse seiner Untersuchungen zu demselben Schluß, zu dem auch HILTNER und STÖRMER gekommen waren, daß nämlich die Schwefelkohlenstoffwirkung eine Stickstoffwirkung ist.

Versuche von MORITZ und SCHERPE (2) ergaben, daß der Schwefelkohlenstoff noch nach mehreren Monaten in der Bodenluft, selbst in

verhältnismäßig geringer Tiefe, nachweisbar war. Daraus folgt jedenfalls die Möglichkeit und Wahrscheinlichkeit einer über längere Zeit sich erstreckenden direkten Wirkung des Schwefelkohlenstoffs, sei es auf grüne Pflanzen oder auf Bodenbakterien. Die beiden Forscher (1) sind geneigt, mit HILTNER und STÖRMER die Schwefelkohlenstoffwirkung als Stickstoffwirkung aufzufassen, zumal sie im Gegensatz zu KOCH in sterilisierten Böden eine günstige Wirkung der Schwefelkohlenstoffbehandlung nicht zu beobachten vermochten, und da ferner die Pflanzen dem behandelten nicht-sterilisierten Boden mehr Stickstoff entzogen als dem unbehandelten. Der letztere Schluß ist aber deshalb nicht stichhaltig, weil nur der absolute Stickstoffgehalt der Pflanzen vom behandelten Boden größer war (0,175 g) als der der Pflanzen vom unbehandelten (0,104 g). Das ist selbstverständlich, da ja die Pflanzen auf dem unbehandelten Boden nur halb so stark waren wie auf dem behandelten; das Durchschnitts-Trockengewicht der ersteren betrug 4,91 g, das der letzteren 8,74 g. Der prozentische Gehalt an Stickstoff war aber bei beiden Reihen ziemlich gleich: 2,10 bezw. 2,01 Proz.

Daß die Schwefelkohlenstoffwirkung in solchen Fällen, wo es sich um Beseitigung einer von tierischen Bodenbewohnern (z. B. Rübennematoden) hervorgerufenen Müdigkeitsform handelt, auf seine lebenzerstörende Wirkung zurückzuführen ist, ist selbstverständlich. Für die anderen Fälle stehen einander zurzeit die KOCH'sche Theorie der direkten Reizwirkung und die HILTNER-STÖRMER'sche Theorie der indirekten bakteriellen Wirkung gegenüber. Es sei indes darauf aufmerksam gemacht, daß gegen diese, die mit einer indirekten düngenden Wirkung des Schwefelkohlenstoffs rechnet, die Erfahrung spricht, nach der es nicht möglich ist, echte, nicht auf Erschöpfung des Bodens zurückzuführende Bodenmüdigkeit durch irgendwelche Düngung zu beseitigen.

§ 117. Die Bodenbakterien und die Kohlenstoffverbindungen des Bodens.

Die weitaus meisten Bakterien und Pilze des Bodens sind nach dem heutigen Stande unserer Kenntnis vom Leben im Boden heterotroph und daher auf organische Kohlenstoffverbindungen angewiesen, die denn auch keiner belebten Schicht des Bodens fehlen. Sie gelangen dahin zum größten Teil in Form von Absonderungen, Rückständen und Leichen von Tieren und Pflanzen auf natürlichem Wege oder durch Düngung mit diesen Stoffen. Daher sind auch die oberflächlichen Schichten des Bodens im allgemeinen am reichsten an organischer Substanz, die man gemeinhin als Humus bezeichnet. Nur ein kleiner Teil der festen organischen Substanz wird im Boden selbst aus dem Kohlendioxyd der Luft erzeugt, und zwar durch die assimilierende Tätigkeit autotropher Organismen, grüner Algen, der nitrifizierenden Bakterien und vielleicht noch anderer, die erst in Zukunft erkannt werden dürften. Daß auch die zuerst von IMMENDORFF (1) und später von KASERER (1) beobachteten Wasserstoff oxydierenden Bakterien des Bodens hierher gehören, ist sehr wahrscheinlich, aber wohl noch nicht ganz sicher bewiesen. Dagegen gehören zu den den Boden an organischen Kohlenstoffverbindungen bereichernden Organismen sicher der *Bacillus oligocarbophilus* BEIJERINCK's und VAN DELDEN's (1) und der Methan als Kohlenstoffquelle benutzende Bazillus, den ebenfalls KASERER (1) fand, und den SÖHNGEN (1) bald dar-

auf als *Bacillus methanicus*, seine allgemeine Verbreitung nachweisend, kurz beschrieb. Der *Bac. oligocarbophilus* benutzt gasförmige organische Verbindungen der Luft, wahrscheinlich unter anderen auch die von Henriet (1) in der Luft nachgewiesene, die dieser Forscher für ein monosubstituiertes Formamid (Formel CHO . NHR) hält. Beiläufig erwähnen Beijerinck und van Delden, daß eine Boden-Streptothrix ähnliche Lebensbedingungen hat. Jedenfalls sorgen solche Organismen, neben den Wurzelrückständen der gesteigerten Pflanzenproduktion, dafür, daß nach H. de Vries (1) alleinige Düngung mit Kunstdünger keineswegs immer eine Verarmung an Humus bewirkt.

Der auf irgend eine Weise in den Boden gekommenen organischen Stoffe, auch der Bakterien- und Pilzleichen, bemächtigen sich dann die heterotrophen Bodenorganismen, um von ihnen ihre Leibessubstanz aufzubauen und durch die Veratmung eines Teils derselben oder durch die Vergärung gewisser organischer Substanzen die für ihr Leben nötige Betriebsenergie zu gewinnen. Der Gehalt verschiedener Böden an Humus ist sehr verschieden. Am reichsten sind die Torf- und Moorböden, am ärmsten im allgemeinen vegetationsarme Sandböden der ariden Region. Der vielbearbeitete Ackerboden ist wegen der rascheren Zersetzung der organischen Substanz infolge der Bearbeitung und Durchlüftung im allgemeinen ärmer als nicht bearbeiteter Wiesenboden. Den neutral oder alkalisch reagierenden milden Humus der Acker- und mancher Waldböden bezeichnet P. E. Müller (1) als Mull, während der sauer reagierende, meist in großen Massen angehäufte Humus der Steppen, vieler Wiesen, der Haiden und vieler Wälder von Wollny (3) als Rohhumus, von Reinitzer (1) besser als saurer Mull, bezeichnet wird. Beide unterscheiden sich auch, wie bereits auf S. 439 erwähnt worden ist, in ihrer Mikroflora: Im sauren Mull überwiegen bei weitem die Fadenpilze, im milden Mull die Bakterien. Schon Naegeli (1) schrieb den Fadenpilzen die Hauptrolle bei der Bildung des Rohhumus (sauren Mulls) zu; P. E. Müller (1) betrachtet als charakteristisch für den Rohhumus der Wälder ein dunkelgefärbte Fäden bildendes *Cladosporium humifaciens* Rostrup, und Koning (2) betrachtet, allerdings ohne (ebensowenig wie Naegeli und P. E. Müller) exakte Beweise dafür zu haben, unter anderen Schimmelpilzen besonders *Trichoderma viride* Oudemans und *Cephalosporium Koningi* Oud., die er regelmäßig in Waldhumus auf den verwesenden Blättern fand, als diejenigen, welche die Humifizierung der organischen Substanz hervorrufen. Von ihnen ist *Trichoderma* auch deshalb bemerkenswert, weil seine Kulturen gleich denen der im Boden überall verbreiteten *Cladothrix odorifera* Rullmann (s. S. 211) und der *Streptothrix chromogena* Gasperini den typischen Erdgeruch ausströmen. Der *Streptothrix chromogena* Gasperini, welche auf den verschiedensten Substraten Chinon bildet und ein regelmäßiger Bewohner des Garten- und Waldbodens, besonders in der Nähe von Pflanzen und Wurzeln, zu sein scheint, schreibt Beijerinck (1) einen sehr regen Anteil an der Humifikation in Wald- und Gartenerde zu.

Die **Humifizierung**, die Bildung der sogen. Humusstoffe und Humussäuren aus den dem Boden zugeführten Arten organischer Substanzen, findet übrigens nicht allein, sondern nur in besonders hohem Maße im Rohhumus statt. Humusstoffe fehlen auch im Ackerboden nicht ganz. Die Chemie der hierher gehörigen Substanzen ist noch wenig aufgeklärt. Sicher ist nur, daß die Humifizierung der organischen Substanz mit einer Zunahme des prozentischen Kohlenstoffgehalts ver-

bunden ist, während Wasserstoff- und Sauerstoffgehalt abnehmen. Mit zunehmender Humifizierung wird auch die Farbe im allgemeinen eine dunklere. Die natürlichen Humusstoffe sind auch stickstoffhaltig. Detmer (1) unterscheidet unter den Humusstoffen den in alkalischen Flüssigkeiten unlöslichen, nur quellenden, dunkel (braun bis schwarz) gefärbten indifferenten Humus (Ulmin, Humin) von den in reinem Wasser etwas löslichen Humussäuren, die wasserlösliche Alkalisalze bilden. Mull enthält die geringste, Rohhumus eine größere und Torf die größte Menge Humussäuren. Charakteristisch für die eigentlichen Humusstoffe ist insbesondere ihre schwere Zersetzbarkeit. Uebertreibt auch zweifellos Hoppe-Seyler (1), wenn er die Humuskörper den beständigsten Mineralien an die Seite stellt, so haben doch in der Tat Reinitzer (1) und Nikitinsky (1) bei ihren sehr eingehenden Untersuchungen keinen Pilz und kein Bakterium auffinden können, das aus echten Humuskörpern seinen Kohlenstoffbedarf decken könnte. Nur den nötigen Bedarf an Stickstoff vermochten die verschiedensten Organismen ihnen zu entnehmen. Leider haben beide Forscher dem Schicksal des Kohlenstoffs bei diesem Angriff der Pilze und Bakterien keine weitere Beachtung geschenkt. Möglich wäre ja, wenn es auch nicht gerade wahrscheinlich ist, daß dabei auch der Kohlenstoff oxydiert wird und so eine fundamentale Zersetzung der Humuskörper stattfindet. Jedenfalls lehrt schon die Tatsache des begrenzten Vorkommens von Humuskörpern, daß es in der Natur Vorgänge geben muß, welche auf ihre Wiederzersetzung hinarbeiten, und es ist wahrscheinlich, daß auch diese Vorgänge, zum Teil wenigstens, biologischer Natur sind. Nach Nikitinsky zersetzen sich übrigens Humussäure und ihre Salze besonders im feuchten Zustande an der Luft unter Kohlensäureabspaltung, und dieser Prozeß wird durch die Gegenwart von Bodenorganismen sehr verstärkt.

Ueber die Muttersubstanzen, aus denen die Humuskörper entstehen, ist nichts Sicheres bekannt. Künstlich vermag man bekanntlich durch wasserentziehende Mittel und Eingriffe aus Zucker und anderen Kohlenhydraten Huminstoffe zu erzeugen. Auch ein solcher künstlicher Huminkörper, hergestellt aus Rohrzucker durch längeres Erhitzen mit verdünnter Salzsäure, wird nach Wärmbold (1) von Bodenbakterien nicht als Kohlenstoffquelle benutzt.

Die organischen Bestandteile des Mulls, welche der Humifizierung nicht verfallen, werden von den verschiedenen Bodenbewohnern bald schneller, bald langsamer bis zu den Endprodukten Kohlensäure und Wasser zerlegt. Je nach der Natur des Stoffes und nach den äußeren Verhältnissen werden die dabei tätigen Organismen natürlich verschieden sein. Im übrigen sei bezüglich der Zersetzungserreger auf die einschlägigen Kapitel des Handbuches verwiesen (Bd. III, Kap. 4, 9—11; Bd. V, Kap. 21). Ueber Fettspaltung im Boden vergleiche man Bd. II, S. 214 sowie S. 399 des vorliegenden Bandes; eine Zusammenstellung der Literatur hat neuerdings Rahn (1) gegeben. Für alle nur denkbaren Zersetzungsvorgänge biologischer Art scheinen die spezifischen Organismen im Boden vorzukommen. Die Wasserstoff und Methan oxydierenden Bakterien sind bereits erwähnt worden. Selbst für einen den Organismen scheinbar so wenig Angriffsfläche bietenden Körper wie das Paraffin hat neuerdings Rahn (2) einen spezifischen Zersetzungserreger in Gestalt eines weißen *Penicillium* aus Boden gezüchtet. Die biologische Zersetzung der organischen Substanz im Boden gleicht durchaus der Selbstreinigung des Wassers (vergl. S. 370 u. f.) und wird

daher vielfach von Hygienikern auch als Selbstreinigung des Bodens bezeichnet.

Ein Endprodukt der Zersetzung ist das Kohlendioxyd, die Kohlensäure. In der Bestimmung derselben hat man also ein Maß für die Intensität der Zersetzung in einem Boden, für die Tätigkeit der Zersetzungserreger. Solche Untersuchungen verdanken wir insbesondere WOLLNY, auf dessen zusammenfassendes Werk (3) hier verwiesen sei; dort findet man auch weitere Literatur. Nach WOLLNY's Zusammenstellung ist die Intensität der Zersetzung außer von äußeren Umständen (Luftzutritt, Wassergehalt des Bodens u. dergl.) von der Menge der organischen Substanz abhängig — je größer dieselbe ist, um so weniger intensiv verläuft ihre Zersetzung —, ferner von ihrer Zerkleinerung und Verteilung, mit der die Intensität der Zersetzung wächst, wenigstens soweit es sich um schwerer zersetzliche Substanzen handelt, hauptsächlich aber von der Natur der Substanz selbst. Bei Versuchen, in denen WOLLNY je 1 g Kohlenstoff in Form verschiedener Substanzen, gemischt mit 400 g Quarzsand und 50 ccm Wasser, bei konstanter Temperatur hielt, fand er die in nachfolgender Tabelle angeführten Kohlensäuremengen, die einen Maßstab der relativen Zersetzungsfähigkeit bilden:

Material	Kohlenstoffgehalt Proz.	Gewichtsmenge, welche 1 g Kohlenstoff enthält g	Volum-Proz. Kohlensäure in der Bodenluft
Knochenmehl, gedämpft	9,24	10,82	3,1769
Peruguano	16,67	5,99	2,4855
Erbsenstroh	40,75	2,45	2,2156
Gerstenstroh	41,43	2,41	1,9562
Roggenstroh	43,36	2,30	1,5936
Rinderdünger, frisch	24,16	4,14	1,3431
Eichenblätter	43,20	2,31	0,9421
Hornmehl, rohes	45,40	2,20	0,7170
Fichtenholzsägemehl	44,12	2,27	0,5284
Torf (von Cunrau)	40,03	2,49	0,3229

Der Torf ist jedenfalls wegen seiner antiseptischen Eigenschaften besonders schwer zersetzlich. Dazu kommt, daß er besonders reich an Huminsubstanzen ist, und daß es sich bei ihm um eine Substanz handelt, die sich bereits in einem vorgeschrittenen Grade der Zersetzung befindet. Mit dem Fortschreiten der Zersetzung nimmt nämlich in der Regel auch die Intensität der Zersetzung ab.

Die bei der Zersetzung der organischen Substanz gebildeten Stoffwechselprodukte der Bodenorganismen wirken aber auch ihrerseits auf die Bodenbestandteile. Die Kohlensäure löst sich zum Teil in der Bodenflüssigkeit und wirkt zersetzend auf die Gesteine des Bodens, ähnlich wie die von den Wurzeln der Pflanzen gebildete Kohlensäure, durch deren lösende Kraft wahrscheinlich die von SACHS zuerst erzeugten Aetzfiguren auf Marmorplatten hervorgerufen werden. Dieser den Boden aufschließenden Wirkung der Bodenorganismen sind zuerst STOKLASA, DUCHÁČEK und PITRA (1) näher getreten. Sie fanden gelegentlich von Untersuchungen über die Aufschließung des Knochenmehlstickstoffs durch Bakterien, daß dabei auch gewisse Mengen (3,83—23,3 Proz.) der Phosphorsäure in Lösung gingen. Am meisten lösten die ammoniakbildenden

Bakterien, darunter der *Bacillus mycoides*. Später haben dann Stoklasa und Ernest (1) die Menge der in verschiedenen Böden durch die Bodenorganismen gebildeten Kohlensäure bestimmt, die zwischen 0,0599 und 0,0175 g pro kg Boden (obere Schichten) und Tag schwankte. Im
5 Untergrunde und bei Luftabschluß war die Kohlensäureproduktion viel geringer. Stålström (1) ließ sterile und in Zersetzung befindliche organische Stoffe verschiedener Art (Milchzucker, Milch, Bouillon, Torfstreudung, Torf) auf reines Tricalciumphosphat einwirken, mit dem Ergebnis, daß bei Kohlensäure-Ammoniak-Gärung, wie sie die drei letzten
10 Stoffe eingingen, nur wenig Phosphorsäure in Lösung ging, kaum mehr, als durch die Sterilisation in den sterilen Parallelversuchen gelöst wurde. Um so energischer war die lösende Wirkung der in Milch und Milchzuckerlösung einsetzenden Milch- und Buttersäuregärungen. Ebenso beobachteten A. Koch und Kröber (1) energische Lösung der Phosphor-
15 säure aus Knochenmehl und Thomasmehl in zuckerhaltigen Nährlösungen, die durch Impfung mit Erde oder Jauche in saure Gärung versetzt waren. Essig- und Buttersäurebildner schienen dabei besonders tätig zu sein. Die Gegenwart von Calciumkarbonat, Aetzkalk, Magnesiumkarbonat, Ammoniak, durch welche die organischen Säuren gebunden
20 werden, hindert natürlich die lösende Wirkung, die dann erst nach Neutralisation dieser Körper eintritt. Zum Teil erklärt sich aus dieser Beobachtung jedenfalls die bessere Wirkung des Knochenmehls in humusreichem Boden, in dem unter anderen, insbesondere Humus- und Kohlensäure, jedenfalls auch ähnliche Säuren wie die von Koch und Kröber
25 wirksam befundenen gebildet werden. Wenn auch nicht gegenüber den Phosphaten, so ist doch gegenüber den Silikaten und den Karbonaten des Bodens die aufschließende und lösende Wirkung der Atmungskohlensäure der Mikroorganismen jedenfalls in Betracht zu ziehen. Bei einem von Schander (1) citierten Versuch von Stöckhardt steigerte längeres
30 Durchleiten kohlensäurereicher Luft durch Boden die Wasserlöslichkeit und Assimilierbarkeit seiner Mineralstoffe durch Pflanzenwurzeln ganz außerordentlich. Ein ähnliches Ergebnis hatten auch ganz neuerdings von Mitscherlich (1) angestellte Versuche. Nach Kunze (1) besitzen übrigens die Fadenpilze vermöge der ihnen eigenen Ausscheidung organischer
35 Säuren (Oxalsäure, Citronensäure) ein besonders starkes Aufschließungsvermögen gegenüber den Mineralien des Bodens. Kunze ist geneigt, darin zum großen Teil die Bedeutung der Mykorrhiza für die mit solchen versehenen Pflanzen zu suchen. Ueber die kaolinisierende Wirkung von Wurzeln und Mikroorganismen auf Feldspat vergl. auch Sestini (1).
40 Bei der Aufspaltung der organischen Verbindungen im Mull werden natürlich außer Kohlendioxyd und Wasser, soweit außer den Elementen dieser Endprodukte noch andere in dem Molekül vorhanden waren, diese ebenfalls abgespalten. Auf das Schicksal des Stickstoffs werden wir im nächsten Paragraphen eingehen. Hier sei nur erwähnt, daß organisch-
45 sauere Salze in kohlensaure verwandelt werden, daß ferner der Schwefel der Eiweißstoffe mineralisiert wird (s. S. 214) und ebenso die Phosphorsäure, die einen Bestandteil mancher Verbindungen, insbesondere der im Humus nie fehlenden Nucleinstoffe, bildet. Nach Iwanoff (1) zersetzen Schimmelpilze Thymonucleinsäure unter Abspaltung von Phosphorsäure
50 (s. Bd. IV, S. 257).

Andererseits können auch anorganische Stoffe in den Stoffwechsel der Bodenorganismen gezogen werden. Von Interesse ist dabei die auf nassen humusreichen Böden wiederholt beobachtete Reduktion von Sul-

faten, wodurch Sulfide entstehen können, die, soweit sie sich in Wasser lösen, für das Gedeihen höherer Pflanzen direkt verderblich sind. Besonders oft ist in Moorböden die Entstehung von Schwefelkies beobachtet, der, an sich unschädlich, bei Zutritt der Luft sich in die sehr schädlichen Stoffe Ferrosulfat und Schwefelsäure verwandelt; man vergleiche darüber Maercker (1), Osswald (1) und Fleischer (1).

Nur kurz sei darauf hingewiesen, daß die Tätigkeit der Zersetzungserreger im Boden natürlich auch mit einer Wärmeentbindung verbunden ist (s. 24. Kap. d. I. Bds.), die nach Wollny (2) in der ersten Zeit nach dem Unterbringen der organischen Substanz entsprechend der größeren Intensität der Zersetzung am größten ist. Natürlich ist die Temperaturerhöhung absolut gering. Das beobachtete Maximum betrug bei leicht zersetzlichen Düngern, frischem Pferdemist und Bohnenstroh, 1 bezw. 2,8°. Sehr starke, auf tiefwurzelnde Pflanzen sogar schädlich wirkende Temperaturerhöhung (37°) beobachtete Thiesing (1) in einem durch Auffüllen mit Müll (Haushaltungsabfällen) erhaltenen Boden.

§ 118. Die Bodenbakterien und der Stickstoff.

Sehr verschiedene Stickstoffverbindungen kommen im Boden vor, und ebenso kommt der Stickstoff auf sehr verschiedenen Wegen in den Boden, teils absichtlich durch Düngung, teils auf natürlichem Wege. Im Stallmist und in tierischen Abfällen mannigfacher Art (Knochenmehl, Hornmehl, Wollstaub, usw.), ebenso in tierischen Exkrementen, Tierleichen und toten Pflanzenteilen, die auf natürlichem Wege auf und in den Boden gelangen, werden dem Boden organische Stickstoffverbindungen sehr mannigfaltiger Art zugeführt. Einfacherer Art sind die Verbindungsformen des Stickstoffs in den sogen. Handelsdüngern, unter denen hauptsächlich das schwefelsaure Ammoniak und der Chilisalpeter, neuerdings auch die künstlich aus dem Stickstoff der Luft gewonnenen, Kalksalpeter und Kalkstickstoff, zu erwähnen sind. Kleine Mengen von Ammoniumnitrat und Ammoniumnitrit erhält der Boden auch durch den Regen, der diese unter Einwirkung des Blitzes aus dem Stickstoff der Luft sich bildenden Salze in den Boden spült. Endlich sind im Boden selbst Kräfte tätig, welche den Stickstoff der Luft in Verbindung überführen und so den Boden an Stickstoff bereichern.

Die Umwandlungen der verschiedenen Verbindungsformen des Stickstoffs im Boden sind im wesentlichen schon im Ersten Abschnitt des vorliegenden Bandes behandelt worden, so daß hier nur eine kurze Nachlese zu erledigen bleibt. Ehe wir diese jedoch beginnen, sei kurz auf die von Neuburger (1) vor kurzem zusammengestellten Wege hingewiesen, auf denen die chemische Industrie neuerdings den Luftstickstoff in Verbindungen überzuführen gesucht hat, welche als Ergänzung und Ersatz des schwindenden Chilisalpeters und des nur in beschränkten Mengen lieferbaren schwefelsauren Ammoniaks zur Düngung dienen können. Für die Praxis kommen bis jetzt von den vielen Wegen, auf denen das möglich ist, nur zwei in Betracht, auf die wir uns hier beschränken. Der eine davon, bestehend in der Oxydation des Luftstickstoffs durch den elektrischen Flammenbogen zu Stickoxyd, das sich dann weiter oxydiert, und dessen Oxydationsprodukte in Kalkmilch als nitrithaltiges Calciumnitrat gebunden werden, wird in Schweden zurzeit praktisch ausgeführt und liefert das Calciumnitrat. Der andere besteht im

Durchleiten von Stickstoff durch ein glühendes Gemisch von Kalk und Kohle und liefert den sogen. Kalkstickstoff, dessen wirksamer Bestandteil die Calciumverbindung (CN . NCa) des Cyanamides ist. Wir kommen auf S. 460 darauf zurück.

5 Im natürlichen Boden findet die **Bindung** des **atmosphärischen Stickstoffs**, wie WARMBOLD (1) neuerdings wahrscheinlich gemacht hat, außer durch biologische Vorgänge auch auf rein chemischem Wege statt. In einigen seiner Versuche wurde eine sehr merkliche Bereicherung gut durchlüfteter sterilisierter Böden von sehr poröser Natur bei Absperrung 10 durch Schwefelsäure beobachtet. Diese Bereicherung, die sich zwischen 9.8 und 20.9 Proz. des ursprünglichen Stickstoffgehalts (Bestimmung nach JODLBAUER) beschränkte, wurde allerdings in einzelnen Fällen nicht beobachtet. Bei Versuchen mit kleineren Bodenmengen und dünnen Bodenschichten war der Wassergehalt des Bodens ohne Einfluß auf diese Art 15 der Stickstoffbindung, die in größeren Mengen der untersuchten Böden (13.5 kg) bei einem Wassergehalt von 20 Proz. und mehr am stärksten war. Entsprechend ihrem rein chemischen Charakter zeigte diese Art der Stickstoffbindung auch weder in sterilisiertem noch in rohem Boden eine deutliche Abhängigkeit von der Temperatur. Im Zusammenhang 20 mit diesen Ergebnissen sei die Anschauung BONNEMA's (1) wenigstens kurz erwähnt, der die Stickstoffbindung durch Bakterien überhaupt leugnet, ihnen vielmehr nur die Rolle zuschreibt, den durch einen anorganischen Katalysator (Ferrihydroxyd) gebundenen Stickstoff in ihre Leibessubstanz aufzunehmen. Ihm nähert sich neuerdings THIELE (2), 25 der sonderbarerweise dem *Azotobacter* wohl im Laboratorium, nicht aber im Boden unter natürlichen Verhältnissen die Fähigkeit des Stickstoffsammelns zuerkennen will, und zwar trotzdem er selbst, wenigstens in einem Versuche mit künstlichem Boden (Sand-Ton-Mischung), der mit Mannitlösung getränkt war, eine ziemlich beträchtliche Stickstoffan-30 reicherung fand. Bezüglich der Stickstoffbereicherung des Bodens durch biologische Vorgänge sei zu den Ausführungen im 1. und 2. Kapitel nur unter Verweisung auf VOGEL's Sammelreferat (1) nachgetragen, daß neuerdings MOORE (1) für die Impfung der Leguminosen mit Knöllchenbakterien ein neues Verfahren vorgeschlagen hat: MOORE wirft der Dar-35 stellung des Nitragins (s. S. 55) vor, daß durch die Züchtung auf stickstoffreichen Nährböden die Knöllchenbakterien die Fähigkeit, den atmosphärischen Stickstoff zu binden, verlören, und zieht deshalb sein Präparat auf einem stickstoffarmen (ohne absichtlichen Zusatz von Stickstoffverbindungen erhaltenen) Nähragar heran, hergestellt aus 10 g Agar, 40 10 g Maltose, 1 g Monokaliumphosphat und 0.2 g Magnesiumsulfat auf 1 l Wasser. Der Agar konnte auch durch Kieselsäure-Gallerte ersetzt werden. Die so erhaltenen Kulturen erwiesen sich als sehr wirksam auch in Feldversuchen. Mit Reinkulturen aus Erbsenknöllchen ließen sich Inkarnat-, Rot- und Weißklee, Bastardklee, ferner *Medicago sativa*, 45 *Vicia Faba*, *V. villosa*, *Phaseolus vulgaris* und andere, überhaupt alle geprüften Leguminosen mit Ausnahme der Lupinen erfolgreich impfen. Nach MOORE büßt die *Pseudomonas radicicola* (BEIJERINCK) MOORE, der Knöllchenorganismus, bei Kultur auf stickstoffreichen Nährböden von ihrer Fähigkeit der Bindung des freien Stickstoffs mehr oder weniger 50 ein. Es besitzt also nach MOORE das Bakterium allein diese Fähigkeit, und die Wirtspflanze zieht erst Vorteil, wenn sie des Eindringlings Herr wird und die von ihm gebildeten Stickstoffverbindungen sich aneignet, auflöst und absorbiert. Auch nach STEFAN (1), dem wir dankenswerte

Untersuchungen über die Anatomie der Leguminosenknöllchen verdanken, wird der Inhalt der Knöllchenbakterien von der Wirtspflanze assimiliert, allerdings erst nachdem die Bakterien unter dem Einfluß der angehauften eigenen Stoffwechselprodukte degeneriert sind und Bakteroidenform angenommen haben, und nachdem unter dem Einfluß der gleichen Produkte auch die Wirtszellen selbst degeneriert sind. Stefan ist geneigt, die Knöllchenbakterien zu den neuerdings von Baur (1) und Quehl (1) studierten Myxobakterien zu stellen. Golding (1) sieht die Rolle der Wirtspflanze in den Knöllchen darin, daß sie lösliche Stoffwechselprodukte der Knöllchenbakterien absorbiert und entfernt, welche anderenfalls die Bindung des Stickstoffs lähmen würden. Dementsprechend beobachtete Golding größeren Stickstoffgewinn in Kulturen von Knöllchenbakterien, wenn die löslichen Stoffwechselprodukte mit Hilfe eines Chamberlandfilters entfernt wurden. Einen gänzlichen Mißerfolg hatten Remy's Impfversuche (4) mit amerikanischen „Nitrokulturen", angeblichen Trockenkulturen von Knöllchenbakterien, in denen Knöllchenbakterien mit Sicherheit überhaupt nicht festgestellt werden konnten. Nach Maassen und Müller (1), die von 27 Leguminosenarten die Knöllchenbakterien isolierten, hat die Kultur auf stickstoffhaltigen Nährböden nur dann einen schädlichen Einfluß auf die Wirksamkeit der Knöllchenbakterien, wenn diese eine Umwandlung zu Bakteroiden erlitten haben. Ueberhaupt erwies sich bei Impfversuchen der Ernährungs- und Gesundheitszustand der zu inficierenden Pflanze als weit maßgebender für den Erfolg der Impfung als die „Virulenz" der benutzten Kultur. Für eine größere Anzahl der von verschiedenen Arten gezüchteten Knöllchenbakterien ließen sich so ausgeprägte Unterschiede feststellen, daß an ihrer artlichen Verschiedenheit ein Zweifel nicht mehr obwalten kann.

Nach Wohltmann (1) und Bachmann (1) wirkt Kaliumphosphatdüngung ungemein günstig auf den Knöllchenbesatz der Erbse. Bei Topfversuchen mit verschiedenen Lupinen erzielten Seelhorst, Freckmann und Bünger (1) die höchsten Erträge an Pflanzensubstanz wie an Stickstoff bei höchstem Wassergehalt des Bodens (84 Proz. der wasserhaltenden Kraft). Ein hoher natürlicher oder durch Düngung hervorgerufener Stickstoffgehalt des Bodens, sowohl Nitrat- wie Humusstickstoff, beeinträchtigt nach Nobbe und Richter (1 u. 2) die Funktion der Knöllchen mehr oder weniger, Nitratstickstoff mehr als organisch gebundener Stickstoff. Nach Marchal (1) hindern in Wasserkulturen schon kleine Mengen von Ammoniumsalzen und Nitraten die Knöllchenbildung, während Kalk- und Magnesiasalze sowie Phosphate günstig wirken. Eingehender, aber mit ähnlichem Resultat hat Flamand (1) die Wirkung verschiedener Stoffe auf die Knöllchenbildung untersucht.

Heinze (2) ist geneigt, in *Azotobacter* die frei im Boden lebende Form der Knöllchenbakterien zu sehen, eine zunächst beweislose Annahme, die dadurch nicht gerade wahrscheinlicher wird, daß Heinze selbst (2 u. 3) *Azotobacter* als farblose Parallelform zu gewissen Cyanophyceen (blaugrünen Algen) auffaßt und angibt, Reinkulturen von *Azotobacter* durch Passagekulturen zum Ergrünen gebracht zu haben.

Daß der Hypertrophien an Mais verursachende Maisbrand, *Ustilago maydis*, nicht, wie Hiltner annimmt, selbst oder in Gemeinschaft mit der Wirtspflanze den freien Stickstoff in Bindung überführt, haben Brefeld und Falk (1) inzwischen nachgewiesen. Den günstigen Einfluß der Symbiose mit dem endophyten Pilz auf das Wachstum von *Lolium temulentum* hat u. a. Freeman (1) bestätigt, dessen Arbeit die

Frage der Verwertung freien Stickstoffs indessen auch offen läßt. Die von HILTNER (s. S. 68) der endotrophen Mykorrhiza zugeschriebene Rolle der Stickstoffbindung vermochte A. MÖLLER (1) bei exakten Versuchen mit *Pinus montana* nicht zu bestätigen.

5 Zu der Reihe von Mikroorganismen, welche frei lebend den atmosphärischen Stickstoff assimilieren, soll nach CH. TERNETZ (1) ein von Wurzeln von *Vaccinium oxycoccos* gezüchteter Pilz gehören, der zwar weit weniger energisch, dafür aber viel ökonomischer arbeitet als *Clostridium Pastorianum*: Es wurden in stickstofffreien zuckerhaltigen Nähr-
10 lösungen Stickstoffgewinne von 6—10 mg auf je 1 g Zucker beobachtet. Nach H. FISCHER (2, 3, 4) ist ein gewisser Kalkgehalt des Bodens die Bedingung für das Gedeihen des gegen Austrocknung sehr widerstandsfähigen Stickstoffsammlers *Azotobacter*, für den nach WARMBOLD (1) das Temperaturminimum oberhalb 5° C, das Optimum zwischen 18 und 31° C
15 liegen dürfte. Verschiedene Reinkulturstämme von *Azotobacter* zeigten bei WARMBOLD's Versuchen übrigens recht verschiedene Grade der Fähigkeit der Stickstoffbindung. KEUTNER (1) fand *Azotobacter chroococcum* und *Clostridium Pastorianum* als konstante Meeresbewohner im Plankton, an festsitzenden Algen und auf dem Meeresgrunde, sowie auch
20 in Süßwasserplankton. Eine Mehrzahl von Bakterien (*Bacterium radicicola*, *B. radiobacter*, *B. pneumoniae*) fand LÖHNIS (6) fähig, freien Stickstoff zu binden: die erhaltenen Stickstoffgewinne waren allerdings sehr gering. Eine Anzahl neuer Formen von stickstoffsammelnden Clostridien haben HASELHOFF und BREDEMANN (1) neuerdings aus Boden sowie von
25 grünen und dürren Baumblättern gezüchtet. Eine Impfung von Boden oder Saatgut mit einzelnen dieser Formen hatte, besonders in sterilisierten Böden, bei Verwendung von Senf und Buchweizen als Versuchspflanze zum Teil deutlichen Erfolg. Danach erscheint der von HENRY beobachtete Stickstoffgewinn der Laubstreu erklärlich, den HORNBERGER (1)
30 freilich nicht bestätigen konnte. Einen eigenartigen Organismus mit „Bacillar- und Coccusbacillenformen“, wie es im Referate heißt, will VOLPINO (1) entdeckt haben; derselbe soll nicht nur freien Stickstoff binden, sondern auch in bezug auf den Kohlenstoffbedarf autotroph sein, aber beim Verweilen in ammoniakfreier Umgebung seine Fähigkeit der
35 Stickstoffsammlung bald mehr oder weniger verlieren. Daß Zusatz von organischer Substanz (Zucker und Stärke) zum Boden die Stickstoffsammlung durch Bakterien fördert, ist nicht nur theoretisch zu erwarten, sondern auch von A. KOCH (5) in Gemeinschaft mit LITZENDORFF direkt beobachtet worden.

40 HILTNER (3) ist der Ansicht, daß die Stickstoffsammlung beim Anbau von Leguminosen allerdings auf die Knöllchenbakterien zurückzuführen sei, daß diese aber durch innerhalb der Rhizosphäre tätige frei lebende Stickstoff assimilierende Organismen unterstützt wird. Dabei sollen beide Formen der Stickstoffbindung durch die Tätigkeit
45 leicht lösliche Stickstoffverbindungen festlegender anderer Organismen innerhalb der Rhizosphäre gefördert sein. Ein Beweis für die Richtigkeit dieser Hypothese steht noch aus, ebenso wie für die von P. WAGNER (3) vertretene Ansicht, daß unter Hackfrüchten (Zuckerrübe) eine besonders lebhafte Stickstoffbindung durch frei lebende Bodenorganismen statt-
50 findet. Zur Ergänzung der Angaben auf S. 15 dieses Bandes sei noch darauf hingewiesen, daß H. FISCHER (1) *Azotobacter chroococcum* stets in Rasen von bodenbewohnenden Oscillarien auffinden konnte: seiner Ansicht nach dürfte hier eine lose Symbiose vorliegen, bei der die Alge

den Kohlenstoffbedarf des *Azotobacter*, letzterer den Stickstoffbedarf der Alge befriedigen, und die für die Besiedelung dürren Sandes, als deren erste Bewohner nach GRÄBNER (1) Oscillarien und Lyngbyen erscheinen, eine Rolle spielen dürfte. Hier sei auch daran erinnert, daß BEHRENS (1) auf nacktem Gestein das *Clostridium Pastorianum* fand. HEINZE (3) schreibt, die Ansichten BEIJERINCK's wiederaufnehmend, auch gewissen Algen, Cyanophyceen, die Fähigkeit der direkten Bindung des atmosphärischen Stickstoffs zu.

Erst nachdem und so weit die stickstoffsammelnden Organismen zugrunde gehen, können die Stickstoffverbindungen derselben dem Boden als Pflanzennahrung zugute kommen, geradeso wie die stickstoffhaltigen Bestandteile von Pflanzen- und Tierleichen bezw. Pflanzen- und Tierteilen oder die künstlich dargestellten bezw. natürlich vorkommenden Stickstoffverbindungen, die auf natürliche Weise oder durch den Landwirt als Dünger dem Boden einverleibt werden. Da die grünen Pflanzen organische Stickstoffverbindungen unmittelbar nicht aufnehmen, so müssen diese zunächst weiter zerlegt und allmählich mineralisiert, in Ammoniak und Salpetersäure verwandelt werden, die beide den Pflanzen zugänglich sind. Wie die Verhältnisse im natürlichen Boden liegen, wird der Stickstoff aber wesentlich als Salpeter von den Pflanzen aufgenommen, wobei zu bemerken bleibt, daß allerdings nach P. KOSSOWITSCH (1) und KRÜGER (1) für manche Pflanzen das Ammoniak eine nicht weniger gute Stickstoffnahrung bildet als der Salpeter.

Die **Zersetzung** der kompliziertер zusammengesetzten organischen Stickstoffverbindungen geschieht natürlich schrittweise. Es sei diesbezüglich auf das 4. Kapitel dieses Bandes verwiesen und hier nur darauf aufmerksam gemacht, daß wir leider über den tatsächlichen Gang der Zersetzung der meisten als Dünger benutzten bezw. im Dünger vorhandenen Eiweiß- und eiweißähnlichen Stoffe sehr wenig unterrichtet sind. Die Zersetzung der Hornsubstanz (Keratin) durch den Pilz *Onygena equina* studierte M. WARD (1). Im Boden sowie in der Ostsee fand BENECKE (1) verbreitet Chitin zersetzende Spaltpilze, von denen er den aus der See isolierten als *Bacillus chitinovorus* beschreibt. Elastin wird nach EIJKMAN (1) durch verschiedene Bakterien aufgelöst (*Bacillus cyaneus*, Abwässer-Bakterien). Ueber die Spaltung der Nucleinsäure durch das Enzym Nuclease vergleiche man SACHS (1).

Zunächst entstehen bei der Spaltung komplexer Stickstoffverbindungen im allgemeinen einfachere, Peptone, Amidosäuren u. dergl., aus denen dann, wie aus dem Harnstoff (s. S. 71), durch Organismentätigkeit schließlich Ammoniak abgespalten wird. Daß steriler Boden das nicht tut, haben MUNTZ und COUDON (1) nachgewiesen. Als besonders energischen Ammoniakbildner nennt MARCHAL (2 u. 3), dem wir die eingehendsten Untersuchungen verdanken, den im Boden allgemein verbreiteten *Bacillus mycoides* neben zahlreichen anderen Arten von Bakterien, während unter den Pilzen *Cephalothecium roseum* und *Aspergillus terricola* (s. Bd. IV, S. 257) als besonders energische Ammonisatoren des Eiweißes genannt werden. Weitere Untersuchungen verdanken wir STOKLASA (1 u. 4) und LÖHNIS (5). Der sogen. Alinitbazillus (vergl. S. 21), *Bacillus ellenbachensis* KOLKWITZ (1), ist ebenfalls ein kräftiger Ammoniakbildner, dessen Sporen, gemengt mit denen von *Bac. mycoides*, KONING (1) als Impfdünger „Ammoniogen" empfahl. Ueber die Ammoniakabspaltung aus Proteinstoffen und anderen organischen Stickstoffverbindungen vergl. man auch Bd. I, S. 310 u. f.

Eine besondere Erwähnung verdient die Zersetzung des Kalkstickstoffs im Boden. Wie Löhnis (5) und Behrens (3) unabhängig von einander fanden, handelt es sich auch bei der Ammonisation dieses Fabrikproduktes um einen biologischen Vorgang. Unter den von Löhnis isolierten Bakterien erwies sich eine neue Form, *Bacterium Kirchneri*, als besonders wirksam. Die Ammonisation des Kalkstickstoffs wird durch die Formel ausgedrückt:

$$CN_2Ca + 3\,H_2O = CO_3Ca + 2\,NH_3.$$

Erst das Ammoniak kann von den Nitrit- und Nitratbildnern zu Salpetersäure oxydiert werden, womit die endgiltige Assimilationsfähigkeit der Stickstoffverbindung für die Pflanze erreicht ist.

Unsere Kenntnis der **Nitrifikation** ist seit der Bearbeitung des 5. Kapitels dieses Bandes nicht erweitert worden, wenn wir davon absehen, daß Perotti (1) mit Hilfe von mit Omelianski'scher Lösung getränkter Koksschlacke einen Nitritbildner aus römischem Boden isoliert hat, den er übrigens mit der *Nitrosomonas europaea* Winogradsky identifiziert. Nach Heinze (1 u. 2) sollen sogar Schimmelpilze (*Aspergillus niger*) imstande sein, nicht nur Nitrite sondern auch Peptonstickstoff in Salpeterform überzuführen. Daß ein gewisser Kalkgehalt des Bodens die Nitrifikation begünstigt, haben Wohltmann und seine Mitarbeiter (1) in Uebereinstimmung mit Polzeniusz (1) auch im freien Lande gezeigt. Dumont und Crochetelle (1 u. 2) sowie Dumont selbst (1 u. 2) fanden die Nitrifikation in humusreichen Böden durch Kaliumkarbonat und durch andere Kalisalze (Sulfat, Chlorid) begünstigt, wenn diese gleichzeitig mit Kalk oder Thomasmehl angewendet wurden. Sogar der wegen seiner schweren Ammonisierbarkeit fast unangreifbare Stickstoff des Torfs wurde dadurch den Nitrifikationsbakterien zugänglich. Darauf, daß ein gewisser, für verschiedene Böden verschiedener minimaler Wassergehalt zur Ermöglichung der Nitrifikation notwendig ist, hat Schloesing (1) aufmerksam gemacht. Daß Bearbeitung und Durchlüftung die Nitrifikation begünstigt, erscheint nur natürlich. Nach Jensen (1) fehlen die Nitrifikationserreger in sauren Moorböden Dänemarks und finden sich auch nach Kalkung und Bearbeitung nur allmählich ein. Nach Löhnis (2) dürfte die Giftwirkung des Ammoniaks gegenüber dem Nitratbildner auf freies Ammoniak und Ammoniumkarbonat beschränkt sein. Das wird auch von Boullanger und Massol (1) bestätigt.

Wie schon aus dem Vorhergehenden hervorgeht, müssen verschiedene Böden auch Unterschiede im Verlauf der Mineralisierung des Stickstoffs, in der Schnelligkeit und im Eintritt der Nitrifikation, zeigen. In Sandböden ist die Nitrifikation im allgemeinen am energischsten, in Tonböden weniger energisch. Doch bestehen vielfach Ausnahmen. Es sei hier neben der zusammenfassenden Darstellung von Wollny (3) auf die Arbeiten von Welbel (1), Withers und Fraps (1, 2, 3) u. a. verwiesen. Von wesentlichem Einfluß ist natürlich auch die Konstitution der zu mineralisierenden Stickstoffverbindungen selbst. Die Mineralisierung erfolgt im allgemeinen um so schneller, je einfacher jene konstituiert sind, je näher sie dem Ammoniak stehen, wie Demoussy (1) für verschiedene Körper bewiesen hat. Ausnahmen beobachteten Withers und Fraps, die aus ihnen auf die Möglichkeit schließen, daß organische Stickstoffverbindungen direkt nitrifiziert werden.

Nach der Zusammenstellung Wollny's ist die Nitrifikation in ähnlicher Weise wie die Mineralisierung des Kohlenstoffs von der Menge des

vorhandenen Stickstoffs abhängig. Je mehr davon vorhanden ist, desto geringer ist, wenigstens relativ, wenn auch nicht immer absolut, die Nitrifikation. Ferner ist die Energie ihres Verlaufs von der Natur der Stickstoffverbindung abhängig, worauf schon oben hingewiesen worden ist. Da die Mineralisierung den Stickstoff den Pflanzen erst recht zugänglich macht, so ist die bei Topfversuchen beobachtete Steigerung des Ertrags bezw. Stickstoffgehalts der Pflanzen durch stickstoffhaltige Düngemittel bis zu einem gewissen Grade ein Maß des Verlaufs der Mineralisierung. Wir geben nachstehend an der Hand von WAGNER (1) einige Zahlen über die relative Wirkung verschiedener Stickstoffverbindungen, die des Chilisalpeters = 100 gesetzt:

Schwefelsaures Ammoniak und unaufgeschlossener Peruguano	83
Blutmehl, Hornmehl, Ricinuskuchenmehl, grüne Pflanzenmasse	65
Knochenmehl, Fischmehl, Fleischmehl	53
Wollstaub und Stallmist	25
Ledermehl	15

Man sieht deutlich, daß die Wirkung mit der Zersetzungsfähigkeit im allgemeinen steigt. Allerdings kann die von STUTZER und KLINGENBERG (1) vorgeschlagene, später auch von PFEIFFER und LEMMERMANN (2) geprüfte Methode, den Wirkungswert der Stickstoffverbindungen durch die Verdaulichkeit in Pepsinsalzsäure zu prüfen, zuverlässige Resultate nicht liefern, weil die Lösungsvorgänge im Boden in anderer Weise geschehen, und weil überdies im Boden neben der Aufschließung des Stickstoffs auch noch andere, im nachfolgenden zu betrachtende Vorgänge verlaufen. Deshalb kann es auch nicht wundernehmen, wenn z. B. GERLACH (1 u. 2) und SÖDERBAUM (1) bei ihren Versuchen über den Düngewert verschiedener stickstoffhaltiger Massen und Stoffe zu anderen Ergebnissen kamen wie WAGNER; vergl. ferner WAGNER (2), SIGMOND (1), PFEIFFER, FRANKE, LEMMERMANN und SCHILBACH (1). Je weiter die Zersetzung der organischen Substanz im Boden bereits gediehen ist, um so schwieriger wird die Mineralisierung des Stickstoffs. Der Stickstoff des Bodenhumus, über dessen Bindungsweise wir DOJARENKO (1) und ANDRÉ (1) Untersuchungen verdanken, widersteht der Mineralisierung mit großer Zähigkeit. In dieser Beziehung verhält sich also der Stickstoff nicht anders als der Kohlenstoff (s. S. 452 u. f.).

Ein sicheres Maß für die Intensität der Mineralisierung des Stickstoffs kann das Ergebnis von Düngungsversuchen mit verschiedenen Stickstoffverbindungen schon deshalb nicht geben, weil keineswegs sämtlicher mineralisierter Stickstoff der gebauten Pflanze zugute kommen muß. Abgesehen von dem Artcharakter und der Individualität der letzteren, welche für die Ausnutzung des Stickstoffs bestimmend sind, und abgesehen von den im Freien unter natürlichen Verhältnissen eintretenden Verlusten an Nitrat durch Versickerung in den Untergrund, kann auf jeder Stufe der Mineralisierung unter dem Einfluß von Bodenmikroben mannigfacher Art wieder eine Rückbildung von Eiweißverbindungen eintreten; ferner ist die Möglichkeit der bereits im 6. Kapitel behandelten Denitrifikation des gebildeten Salpeters in Betracht zu ziehen, und endlich besteht auch im Boden wahrscheinlich die schon auf S. 428 erwähnte, zunächst freilich noch hypothetische Möglichkeit des direkten Abbaus von organischen Stickstoffverbindungen bezw. Ammoniak unter Entbindung von freiem Stickstoff.

Zu den Stickstoffverlusten durch Organismentätigkeit haben die Untersuchungen WARMBOLD's (1) solche durch rein chemische Umsetzungen

in einem Boden von weniger als 3 Proz. Wassergehalt kennen gelehrt. Auch bei einem Wassergehalt von 30 Proz. wurde in sterilisierten Böden Stickstoffverlust beobachtet. Denitrifikation kann dabei nicht beteiligt sein, schon weil Salpeter zu Beginn der Versuche nicht in nennens-
5 werter Menge vorhanden war. Im übrigen aber ist die dabei verlaufende Reaktion vollständig unbekannt.

Daß die **Denitrifikation** bei den Stickstoffverlusten im Boden eine in Betracht kommende Rolle wahrscheinlich nicht spielt, ist bereits auf S. 189 betont worden. Neue denitrifizierende Bakterienformen, die aus
10 Ackererde, Stallmist, Jauche und Kanalwasser durch Anhäufungsversuche in salpeterhaltigen Nährlösungen bei Lichtabschluß erhalten wurden, beschrieb C. van Iterson (1), der glaubt, daß die Denitrifikation bei der Selbstreinigung des Bodens und des Wassers eine Rolle spiele. Löhnis (2) wendet sich gegen die von Winogradsky geäußerte
15 Ansicht, daß Denitrifikation im Boden schon deshalb ausgeschlossen sei, weil Salpeterbildung erst nach Verbrauch der zur Denitrifikation nötigen organischen Substanz stattfinden könne, und weist darauf hin, daß Hiltner und Störmer sogar in von organischen Stoffen freier Nitritnährlösung, wie sie für Nitrifikationsstudien benutzt wird, Denitrifika-
20 tion beobachtet haben. In Meerwasser haben Baur (1), Gran (1) und Feitel (1) denitrifizierende Bakterien gefunden. Auch Beneke's (1) *Bac. chitinovorus* denitrifiziert. Nach Brandt's (1 u. 2) Hypothese würden die denitrifizierenden Organismen für die See eine ähnliche wichtige Rolle spielen, wie man sie vereinzelt bald nach Entdeckung der De-
25 nitrifikation diesen Organismen im Ackerboden beilegte: Brandt ist geneigt, den größeren Reichtum der arktischen Meere gegenüber den tropischen zum großen Teil darauf zurückzuführen, daß erstere, infolge der Unterdrückung der Tätigkeit der denitrifizierenden Bakterien durch die niedere Temperatur, reicher an Nitraten seien. Der Einfluß der
30 Denitrifikation dürfte in dieser Hypothése ebenfalls überschätzt sein.

Die **Rückbildung von Eiweiß** aus Aminosäuren, Ammoniak und Nitraten ist schon auf S. 401 u. f. des Ersten Bandes allgemein behandelt, wo auch bereits die Untersuchungen von Gerlach und Vogel über Eiweißbildung aus Nitraten durch gewisse Bodenbakterien erwähnt sind
35 (S. 411). Man vergleiche auch die Ausführungen auf S. 190 des vorliegenden Bandes. Neuere Untersuchungen verdanken wir Rothe (1); dieselben sind von Stutzer und Rothe (1) kurz referiert worden. Die Wichtigkeit der Festlegung des löslichen Stickstoffs als Protein und ihre Verschiedenheit von der Denitrifikation ist zuerst von Th. Pfeiffer (1),
40 Lemmermann (1) und Pfeiffer und Lemmermann (1) erkannt worden, die in diesem bereits vorher von Rogóyski u. a. beobachteten Vorgang die wesentliche Ursache des Ausbleibens einer Stickstoffwirkung bezw. der wiederholt beobachteten Erntedepression bei Stallmistdüngung und gleichzeitiger Düngung mit organischer Substanz und einem Stickstoff-
45 dünger erkannten. Dementsprechend ist dann vielfach auch eine deutliche Nachwirkung solcher Düngungen im zweiten Jahre und noch später aufgetreten, die z. B. Krüger und Schneidewind (1) und Schneidewind (1) beobachteten.

Zur Voraussetzung haben sowohl Denitrifikation wie Rückbildung
50 von Protein aus löslichem Bodenstickstoff das Vorhandensein genügender Mengen organischer Substanz im Boden, welche den Kohlenstoffbedarf der Organismen decken kann. Sie kommen also, abgesehen von dem praktisch unwahrscheinlichen Fall gleichzeitiger Düngung mit Stallmist

und Salpeter, nur bei Stallmist- und Gründüngung in Betracht. Selbstverständlich ist in solchen Fällen die Festlegung des Stickstoffs und damit das Eintreten einer Erntedepression wohl möglich, aber keineswegs notwendig. Und in der Tat sind genug Fälle bekannt, in denen trotz gleichzeitiger Anwendung von Salpeter und Mist bezw. Stroh oder trotz starker Düngung mit Stroh und anderen organischen Substanzen die Erntedepression ausgeblieben ist. Neuerdings hatten HILTNER und PETERS (2) in Naturböden sogar vielfach recht günstige Erfolge von einer Düngung mit Stroh und sahen andererseits schädliche Wirkungen in Versuchen eintreten, wo der Boden überhaupt keine Spur von Stickstoff enthielt, eine Beeinflussung des Bodenstickstoffs durch die Strohdüngung also nicht in Frage kommen konnte. Es sind also zweifellos auch gewisse Zersetzungsprodukte des Strohes bei einer etwaigen nachteiligen Wirkung von Strohdüngungen beteiligt.

So werden die Verhältnisse immer komplizierter, je genauer man sie untersucht, und es kann nicht wundernehmen, wenn feste Regeln und Gesetze für die Wirkung des Stallmistes und der Gründüngung bis jetzt nicht gefunden sind. Fest steht nur, daß man beide Dünger nicht tief unterpflügen darf, da sie sonst vertorfen und nicht normal verwesen. Das haben die sorgfältigen Untersuchungen BAESSLER's (1) insbesondere auch für die Gründüngung gezeigt, obgleich es auch bei diesen an einem entgegengesetzten Befunde nicht mangelt. Ferner gelangen sie schneller zur Wirkung, verlieren diese aber auch schneller in leichten als in schweren Böden, weil in ersteren der Abbau ein schnellerer ist.

Zu den Verlusten durch Denitrifikation und der vorübergehenden, aber wichtigeren durch Festlegung des Stickstoffs kommen noch die bereits im vorhergehenden Kapitel behandelten, zunächst nur mehr theoretisch erschlossenen durch die direkte Entbindung von freiem Stickstoff bei gewissen Zersetzungen organischer Stickstoffverbindungen. Solche Stickstoffverluste beobachtete z. B. ALFR. KOCH (5), allerdings nur ausnahmsweise, bei Gründüngung mit Senf. Der Mechanismus der Reaktion ist noch nicht sichergestellt. Der Ertrag der Nachfrucht wurde dadurch wesentlich herabgedrückt, und zwar um so viel, als einer Minderdüngung mit 50 kg Chilisalpeter pro Hektar entspricht. Im übrigen sei auf das vorige Kapitel und die dort aufgeführte, auf derartige Stickstoffverluste sich beziehende Literatur verwiesen.

Hier sei noch nachgetragen, daß HILTNER und STÖRMER (1) gerade eine besonders günstige Wirkung der Senf-Gründüngung beobachteten, die sie hypothetisch vermittels einer Wirkung des Senföls auf die Mikroflora des Bodens zu erklären geneigt sind. Sie verweisen auf die jedenfalls durch gleichartige Erfahrungen hervorgerufene, wiederholt ausgesprochene Meinung, daß der Senf ein Stickstoffmehrer sei (s. S. 13). HEINZE (3) ist ähnlicher Ansicht wie die genannten beiden Forscher und gibt insbesondere an, daß die *Azotobacter*-Vegetation durch Senfpflanzensubstanz, ebenso wie durch Schwefelkohlenstoff, in Rohkulturen gesichert und vor Ueberwuchern anderer Organismen geschützt werden konnte. Nach GUTZEIT (1) soll übrigens der Hederich (*Sinapis arvensis* und *Raphanus raphanistrum*) als Unkraut die Nitrifikation im Boden stören, und es soll diese Störung auch von längerer Dauer sein.

§ 119. Die Brache.

Die Frage, ob die Wirkungen der Brache wesentlich auf die Tätigkeit von Bodenorganismen zurückzuführen sind, ist durch die Untersuchungen CARON's (1) aufgeworfen und brennend geworden.

Unter Brache verstehen wir jene, besonders bei schweren Böden angewendete, uralte Form der Bodenpflege, bei der der Boden nach oberflächlichem Stürzen kürzere oder längere Zeit sich selbst überlassen wird. Nach RÜMKER's (1) Definition, die sich an die Darstellung DROOP's (1) anschließt, hat die Brache den Zweck, die Atmosphärilien möglichst lange und intensiv auf den Acker einwirken zu lassen, um die Verwitterung und Verwesung und die Bakterien- und Pilzflora im Boden zur höchsten und vollkommensten Entwicklung zu bringen. Wir unterscheiden dann von der eigentlichen Schwarzbrache, jener Form, die in der alten Dreifelderwirtschaft regelmäßig angewendet wurde, und bei der der Acker ein ganzes Jahr nicht mit Kulturpflanzen bestellt wird, die Teilbrachen, z. B. die sogen. Johannisbrache, bei welcher der Boden sofort nach der Getreideernte gestürzt und bis zur nächsten Bestellung „gebracht“ wird. Die Brache ist nur bei schweren Böden (Ton und Lehm) am Platze, während sie bei leichten Böden unnötig ist, ja verderblich wirkt. Sie spielt bei schweren Böden eine ähnliche Rolle wie die Gründüngung bei leichten. Bei Schwarzbrache folgt dem Schälen der Stoppel im nächsten Frühjahr eine tiefe Krümmerung mit dem Federkultivator. Ende Mai oder Anfang Juni wird durch die mitteltiefe Brachfurche das inzwischen aufgeschossene Unkraut untergepflügt, und der Brachfurche folgt endlich die Saatfurche einige Wochen oder kurz vor dem Aufbringen der Winterfrucht (Roggen, Raps). Die Teilbrachen werden entsprechend behandelt.

Eine gut gelungene Brache versetzt selbst den schwersten und zähesten Boden in einen guten Kulturzustand. Vor allem fallen die physikalischen Wirkungen der Brache, die Lockerheit des Bodens, die vollendete Bodengare, in die Augen. Ferner gedeiht nach Brache die Frucht ohne oder mit geringfügiger Stickstoffdüngung, wie die Erfahrungen zahlreicher Landwirte gezeigt haben. Hier sei auf CARON (2 u. 3), KÖSTER (1), VIBRANS (1), FRUWIRTH (2) verwiesen.

Daß neben der rein chemischen Verwitterung der Bodenmineralien beim Zustandekommen dieser mit der Brache verbundenen physikalischen und chemischen Zustandsänderungen des Bodens den Bodenorganismen eine Rolle zufällt, darauf schienen zunächst, wie bereits auf S. 444 erwähnt, CARON's (1) Zählungen der gelatinewüchsigen Bodenbakterien hinzuweisen: CARON fand bei und nach Schwarzbrache den Boden an solchen Keimen besonders reich, weit reicher als unter und nach Hackfrüchten, Klee oder gar Halmfrucht. Indessen haben HILTNER's und STÖRMER's (1) bei einer Teilbrache gemachte Nachuntersuchungen die Angaben CARON's nicht bestätigt. Sie fanden das Gegenteil und vermögen daher gelatinewüchsigen Mikroben eine Rolle bei der Brache nicht zuzugestehen, folgern aber aus der festgestellten Zurückdrängung der gelatinewüchsigen Keime auf ein Anwachsen der Zahl nicht gelatinewüchsiger, unter denen sie die eigentlichen „Bracheerreger“ vermuten. Die organische Substanz des Bodens, der Humus, spielt, wie HILTNER (3) auch in seinem Vortrage ausführt, bei der Brache eine besondere Rolle, indem er von den Bracheerregern „vergoren“ wird. Nach REMY (3) geht

die Ackergare Hand in Hand mit einem der Zahl nach bedeutenden Organismenbestand, und nach HEINZE (3) hat KRÜGER bei der Brache stets eine Zunahme der gelatinewüchsigen Organismen gefunden, den Befund CARON's also bestätigen können.

Wie dem nun aber auch sein mag, ob es spezifische „Bracheerreger“ gibt, ob die Zahl der gelatinewüchsigen oder die gewisser nicht auf Gelatine gedeihender Elemente der Bodenflora während der Brache zunimmt, oder ob das nicht der Fall ist, fest steht jedenfalls schon durch die Untersuchungen WOLLNY's (1), daß in der Brache die Bodenorganismen eine besonders energische Tätigkeit entfalten, gemessen an der Quantität der gebildeten Kohlensäure: Der Gehalt an dieser in der Bodenluft betrug während des Sommers in Schwarzbrache 4,49 gegen 1 unter Gras. Danach muß in der Brache der Zerfall der organischen Stoffe besonders intensiv vor sich gehen. Dementsprechend muß, wie hier bereits erwähnt werden mag, auch die Verwitterung der Mineralstoffe, soweit sie durch Kohlensäure herbeigeführt wird, während der Brachezeit besonders energisch und umfangreich sein. Umgekehrt ist der Kohlensäuregehalt der Bodenluft und damit die davon abhängige Verwitterung im Boden um so geringer, je dichter unter sonst gleichen Umständen die Pflanzendecke ist. Zum Teil hängt das damit zusammen, daß eine Pflanzendecke den Boden stark austrocknet, und daß die Feuchtigkeitsverhältnisse in der entsprechend gepflegten Brache weit günstiger für Organismenwachstum sind als unter einer Pflanzendecke, wie ebenfalls WOLLNY (3) gezeigt hat. Dazu kommt, daß, ebenfalls nach WOLLNY's Forschungen, wenigstens in der wärmeren Jahreszeit der nackte Boden bis in größere Tiefen durchschnittlich wärmer ist als der bewachsene.

Durch die Brache wird zunächst der physikalische Zustand der Ackerkrume günstig beeinflußt: Es wird die Ackergare erzeugt, d. h. jener für das Gedeihen der Kulturpflanzen besonders günstige Zustand des Bodens, in dem derselbe mürbe und krümelig erscheint. Die kleinsten Bodenteilchen sind nicht vereinzelt (Einzelkornstruktur), dicht über- und aufeinander gelagert, sondern zunächst zu mehr oder weniger großen Krümeln vereinigt, die locker übereinander lagern (Krümelstruktur).

Die Einzelkornstruktur ist bei schweren Böden darum so ungünstig, weil der dicht gelagerte Boden den Wurzeln einen zu großen Widerstand entgegensetzt, und weil er der Durchlüftung so große Hindernisse bereitet. Für andere Zwecke ist er erwünscht, und so sehen wir in der Tonwarenindustrie (Porzellanbereitung) besondere Verfahren angewendet, um dem Material, dem Ton, vollendete Einzelkornstruktur zu geben und ihn so recht plastisch und gleichmäßig zu machen. Darauf, daß dieses Verfahren biologischer Natur ist, läßt der Umstand schließen, daß man dabei den Ton unter Zusatz von Jauche u. dergl. faulen läßt; vergl. HOFFMANN (1). FÖRSTER (1) dürfte recht haben, wenn er die Alkalibildung für die Veränderung des Tones bei diesem Prozeß verantwortlich macht. Daß Alkalien auf Ackerböden ebenfalls Einzelkornstruktur hervorrufen, hat bereits HILGARD (1) gezeigt.

Es scheint nun, als ob auch bei der Herstellung der Krümelstruktur im Boden die Mikroflora desselben nicht unbeteiligt sei. Zunächst sprach BEHRENS (1) eine dahingehende Vermutung auf Grund von Beobachtungen aus, nach denen in feuchtem Tabakpulver, als Schimmelpilze *(Penicillium)* darin wuchsen, typische Krümelstruktur auftrat. KOCH (4) sah suspendiertes Pulver von kohlensaurem Kalk in Nähr-

lösungen, in denen Bakterien wuchsen, dieselbe Struktur annehmen, indem die Kalkkörnchen durch die Bakterienfäden zu losen Krümeln verbunden wurden. Beweiskräftig sind indes nur die Versuche SURINGAR's, die KAMERLING (1) mitteilt: Als SURINGAR Boden mit 15 Proz. einer Erdnußkuchenabkochung tränkte, sah er die Erde beim Liegen in feuchter Luft allmählich deutliche Krümelstruktur annehmen; dagegen blieb diese Veränderung aus, wenn durch Zusatz von Karbolsäure das Wachstum von Organismen verhindert wurde. Für besonders beteiligt hält SURINGAR Fadenpilze bei dem Zustandekommen der Bodengare. Leider ist die Frage bisher nicht weiter verfolgt worden, obwohl die Krümelstruktur maßgebend auch für die so wichtige wasserhaltende Kraft des Bodens ist: Boden mit Krümelstruktur, also auch gebrachter Boden, hat eine weit geringere wasserhaltende Kraft als solcher mit Einzelkornstruktur; auch bei höchstem Wassergehalt fehlt es in jenem nicht an lufterfüllten Räumen und damit nicht an Luft.

Ob bei der Herstellung der Bodengare nun in der Tat eine Gärung im engeren Sinne des Wortes stattfindet, ein Aufblähen und Aufgehen des Bodens (wie beim Brotteig), wie manche Forscher annehmen, bleibt zweifelhaft. Diese Forscher fassen die organische Substanz des Bodens, die man vielfach in Form einer Stallmistdüngung (gedüngte Brache) zuführt, die aber auch in Form des untergepflügten Unkrauts, der sich entwickelnden und vergehenden sogen. Bodenalgen usw. in den Boden gelangt, als Gärmaterial auf. WOLLNY (3) bestreitet die Auffassung der Entstehung des Zustandes der Bodengare als Folge eines eigentlichen Gärungsprozesses entschieden, wie er allerdings überhaupt rein mechanisch-physikalische Ursachen annimmt. Jedenfalls ist es aber wahrscheinlich, daß mit der Herstellung der Krümelstruktur vielfach eine Volumvergrößerung des Bodens verbunden ist. Die größere Durchlüftungsfähigkeit krümeligen Bodens dürfte denn doch darauf hinweisen, daß vielfach nicht nur eine andere Verteilung der Zwischenräume zwischen den Bodenteilchen der Einzelkornstruktur gegenüber stattgefunden hat, sondern auch eine Vergrößerung derselben.

Daß die Krümelbildung oder Flockung hauptsächlich in humusreichen Böden statthat, nicht in humusarmen Sandböden, weist auch darauf hin, daß Bodenorganismen an ihrem Zustandekommen beteiligt sind. Daß unter einer Streudecke und unter gebreitetem Mist der Boden in ausgezeichneter Weise Krümelstruktur zu zeigen pflegt, hängt vielleicht auch zum Teil mit dem größeren Wassergehalt des Bodens unter solchen Decken und mit dem dadurch und durch aus der Decke ausgelaugte organische Substanz begünstigten Gedeihen von Bodenorganismen zusammen, sicher aber zum anderen Teil damit, daß der Regen die Krümel nicht direkt treffen und daher die Einzelkörnchen nicht losreißen kann. Ebenso wirkt auch die Beschattung des Bodens durch Klee u. dergl. Diese Art der Bodengare, die wenig beständig ist und nicht tief in den Boden geht, bezeichnet man als Beschattungsgare.

Nebenbei sei bemerkt, daß die Humifikation der organischen Substanz im Boden physikalisch insofern wirkt, als sie den Boden wärmer macht: Es entstehen dabei dunkelgefärbte kohlenstoffreichere Verbindungen, der Boden wird dunkel gefärbt und erwärmt sich infolgedessen, wenn er von der Sonne getroffen wird, mehr als ein anderer.

Zu einer lebhaften Kontroverse hat die bis heute noch nicht erledigte Frage geführt, ob bei der Brache eine Anreicherung des Bodens an Stickstoff stattfindet. CARON nahm eine solche an und führt wesent-

lich auf sie die günstigen Ergebnisse seiner Wirtschaftsweise mit Schwarzbrache zurück. Eine zweifellose Stickstoffzunahme beobachtete A. Koch in wiederholt umgeschaufelter (durchlüfteter) Erde (s. S. 19). Es ist indes fraglich, ob diese Behandlung direkt mit der Brachehaltung verglichen werden darf. Warmbold faßt die dabei beobachtete Stickstoffbereicherung als Folge eines rein chemischen, nicht biologischen Vorganges auf, zu dem in natürlichem Boden sich aber wohl auch die Tätigkeit der stickstoffsammelnden Bakterien gesellen würde. Welche Rolle dabei den auf der Brache mit Vorliebe sich entwickelnden grünen Bodenmikroben, den Algen, Moosprotonemen, zugedacht wird, darüber wolle man das 1. Kapitel dieses Buches vergleichen. Pfeiffer (2) und Seelhorst (1) verneinen die Stickstoffbereicherung des Bodens in der Brache entschieden und nehmen an, daß es sich nur um eine Aufschließung von Stickstoffverbindungen des Bodens während der Brachezeit handle; die so gebildeten löslichen Stickstoffverbindungen kommen der Nachfrucht zugute, in der Tat aber bedeute die Brachehaltung nichts anderes als Raubbau in bezug auf den Stickstoff. Ihren Anschauungen ist unter anderen Löhnis (3) entgegengetreten, der allerdings vor einer Ueberschätzung der stickstoffbindenden Bodenorganismen warnt, aber im übrigen auf das Hypothetische und zum Teil Gesuchte in den Ausführungen Pfeiffer's hinweist. Ganz radikal verfährt neuerdings Thiele (2); vergl. dazu S. 456.

Die Frage ist heute noch nicht entschieden, da leider die chemische Analyse aus verschiedenen Gründen, wie ebenfalls Thiele (3) besonders gezeigt hat, noch im Stiche läßt. Gegen die Auffassung Pfeiffer's spricht aber insbesondere die von Koch in einem Vortrage vor dem Sonderausschuß der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft für Bodenbakteriologie bereits betonte, auf S. 461 schon erwähnte Tatsache, daß der organisch gebundene Stickstoff des Bodens der Mineralisation um so größeren Widerstand entgegensetzt, je mehr er bereits abgenommen hat. Würde die Brache nur den vorhandenen Bodenstickstoff aufschließen, so dürfte die Quelle des Stickstoffs nicht immer gleichmäßig fließen; es müßten vielmehr die Mengen des der nachfolgenden Frucht zur Verfügung stehenden Stickstoffs und damit auch die Erträge der Wirtschaft stetig abnehmen. Das steht im Gegensatz zu den tatsächlich in Brachewirtschaften zu beobachtenden Verhältnissen.

Nur kurz erwähnt sei, daß Heinze (3) neuerdings in der Brache nicht nur *Azotobacter* stets besonders stark und in Menge auftreten sah, sondern auch angibt, einen direkten Beweis für die Anreicherung des Bodens an Stickstoff während der Brache zu besitzen. Leider teilt Heinze diesen so wichtigen Beweis nicht mit. Nebenbei bemerkt, schreibt Heinze dem *Azotobacter* eine besondere Rolle hinsichtlich der Struktur des Bodens zu.

Unter den biologischen Stickstoffumsetzungen im Boden wird nach Löhnis (1) insbesondere die Tätigkeit des *Azotobacter* und die der denitrifizierenden Bakterien durch das Schälen des Bodens beeinflußt. Die Tätigkeit des ersteren wird gesteigert, die der letzteren gehemmt. Dementsprechend wurden bei Feldversuchen mit Kartoffeln durch das Schälen Mehrerträge von rund 10 kg Stickstoff pro Hektar erhalten.

Allgemeine Uebereinstimmung besteht wohl darin, daß während der Brache, entsprechend der stärkeren Kohlenstoffumsetzung, auch eine stärkere Mineralisierung des Bodenstickstoffs, insbesondere eine stärkere Nitrifikation stattfindet. Zu diesem Resultate kam schon im Jahre 1878

Warington, dessen Arbeiten bereits auf S. 137 citiert sind, und dasselbe ist von den späteren Forschern, die sich mit dem Gegenstande beschäftigten, durchaus bestätigt worden, so von Dehérain (1), Welbel (1), sowie von King, Jeffrey, Whitson, Wells und Vivian (1). Diese Steigerung der Nitrifikation ist wohl eine Folge der durch die Brachehaltung erhöhten Luftdurchlässigkeit und Lockerheit des Bodens (Krümelstruktur); sie tritt wenigstens nach Tretjakow (1) im Gefolge jeder intensiveren Bodenbearbeitung ein. Leider wird dadurch ja die Gefahr von Stickstoffverlusten durch Versickerung der Nitrate vermehrt. Nur Hiltner (3) hält die Steigerung der Nitrifikation im Bracheboden für unwahrscheinlich und glaubt, daß die Nitrifikation erst der Stickstoffsammlung folge; es würde ja die Bildung von Salpeter im Boden die Herstellung der Krümelstruktur, den Eintritt der Bodengare, verhindern, weil Chilisalpeterdüngung erfahrungsgemäß die Krustenbildung, eine Folge von Einzelkornstruktur im Boden, begünstige bezw. herbeiführe. Das ist insofern ein Mißverständnis, als Hiltner vergißt, daß nicht der Salpeter als solcher, sondern das nach Verbrauch des Stickstoffs als Karbonat zurückbleibende, von den meisten Kulturpflanzen verschmähte Natron des Chilisalpeters diese ungünstige Veränderung der Bodenstruktur herbeiführt. Das folgt schon aus Hilgard's (1) Untersuchungen und ist neuerdings wieder von Krüger (2) gezeigt worden.

Nur kurz sei darauf hingewiesen, daß beim Nitrifikationsprozeß naturgemäß die basischen Bestandteile der Mineralien des Bodens, insbesondere der Kalk, stark in Anspruch genommen werden, daß also auch die gesteigerte Nitrifikation zur besseren Aufschließung der mineralischen Nährstoffe in der Brache beiträgt.

Im großen und ganzen kann jedenfalls die wesentliche Mitwirkung der Mikroorganismen des Bodens bei der Brache einem Zweifel nicht mehr unterliegen, wenn auch die Einzelheiten gänzlich dunkel sind und der näheren Erforschung noch harren.

Literatur

zum Kapitel Mykologie des Bodens.

*Adametz, L., (1) Unters. über die niederen Pilze der Ackerkrume. Dissert., Leipzig 1886. *André, H., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1902, Bd. 135, S. 1353. *Bachmann, (1) Ill. landw. Zeitg., 1903, Nr. 40. *Baessler, (1) Mitteilungen d. Deutsch. Landw.-Ges., 1902, Stück 46; 1905, Stück 32/33; 1906, Stück 22. *Baur, E., (1) Wissensch. Meeresunters., Abt. Kiel., N. F., 1901, Bd. 6, S. 11. — (2) Arch. f. Protistenkunde, 1904, Bd. 5, S. 92. *Behrens, J., (1) Arb. d. Deutsch. Landw.-Ges., Heft 64. Berlin 1901. — (2) Mitteil. d. Deutsch. Landw.-Ges., 1904, Stück 26. — (3) Ber. d. landw. Versuchsanst. Augustenberg über 1904. Karlsruhe 1905. *Beijerinck, M. W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 2. *Beijerinck, M. W., und van Delden, A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 10, S. 33. *Benecke, W., (1) Bot. Ztg., 1. Abt., 1905, Bd. 63, S. 227. *Beumer, (1) Deutsche med. Wochenschr., 1886, Bd. 12, S. 464. *Bogdanoff, (1) Zeitschr. f. Zuckerindustrie, 1903, Bd. 11, S. 1271. *Bolley, H. L., (1) North Dacota Agric. College, Bulletin Nr. 50. Fango 1901. *Bonnema, (1) Chem.-Ztg., 1903, S. 148 u. 825. *Boullanger, E., und Massol, L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1905, Bd. 140, S. 687. *Brandt, K., (1) Wissenschaftl. Meeresunters., Abt. Kiel, 1899, N. F., Bd. 4, S. 215, und 1902, N. F., Bd. 6, S. 25; ref. in Kochs Jahresb. 1901, Bd. 12, S. 385. — (2) Beihefte z. Bot. Centralbl., 1904, Bd. 16. 1. Abt., S. 383. *Brefeld, O., und Falk, R., (1) Untersuchungen auf d. Gesamtgebiete der Mykologie, Heft 13. Münster 1905. Buhlert und Fickendey, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt. 1906, Bd. 16, S. 399. *Burri, (1) Schweiz. landw. Centralbl., 1901, S. 215. *Caron, A., (1) Landw. Versuchsstationen, 1895, Bd. 45, S. 401. — (2) Die stickstoffbindenden Bakterien. Vortrag; ref. in Kochs Jahresb., 1897, Bd. 8, S. 212. — (3) Jahrb. d. Deutsch. Landw.-Ges., 1900, Bd. 15, S. 43. *Chaudon de Briailles, R., (1) Revue de Viticulture, 1895, Bd. 4, S. 320. *Conn, (1) Agricultural Bacteriology. 1902. *Dehérain, P. P., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1897,

Bd. 125, S. 209. ***Demoussy,** E., (1) Ann. agron., 1899, Bd. 25, S. 232. ***Detmer,** W., (1) Die naturwissensch. Grundlagen d. landw. Bodenkunde. 1876. ***Dojarenko,** A., (1) Landw. Versuchsstationen, 1902, Bd. 56, S. 311. ***Droop,** (1) Die Brache. Heidelberg 1900. ***Dumont,** J., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1897, Bd. 125, S. 469. — (2) Ebenda, 1901, Bd. 133, S. 1243. ***Dumont,** J. und **Crochetelle,** J., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1893, Bd. 117, S. 670. — (2) Ebenda, 1894, Bd. 118, S. 604; Bd. 119, S. 263. ***Eberbach,** (1) Bakterien im Boden Dorpats. Dissert., Dorpat 1890. ***Ehrenberg,** P., (1) Landw. Jahrbücher, 1904, Bd. 33, S. 139. — (2) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1905, Bd. 15, S. 154. ***Eijkman,** C., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1904, Bd. 35, Orig., S. 1. ***Fabricius,** O., und **Feilitzen,** Hj. **von,** (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1905, Bd. 14, S. 161. ***Feitel,** (1) Wissenschaftl. Meeresunters., Abt. Kiel, 1902, N. F., Bd. 7, S. 103. ***Fischer,** H., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 12, S. 267. — (2) J. f. Landwirtschaft, 1905, Bd. 53, S. 61. — (3) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1905, Bd. 14, S. 33. — (4) Ebenda, 1906, Bd. 15, S. 235. ***Flamand,** H., (1) L'Ingénieur Agricole de Gembloux, 1904, Bd. 14, S. 755; ref. in Biedermanns Centralbl., 1905, Bd. 34, S. 738. ***Fleischer,** M., (1) Landw. Jahrbücher, 1886, Bd. 15, S. 78; 1891, Bd. 20, S. 955. ***Flügge,** C., (1) Z. f. Hyg., 1897, Bd. 25, S. 179. ***Förster,** F., (1) Die chem. Industrie, 1905, Bd. 28, S. 733. ***Fraenkel,** C., (1) Z. f. Hyg., 1887, Bd. 2, S. 521. ***Frank,** A. B., (1) Jahrb. d. Deutsch. Landw.-Ges., 1896, Bd. 13, S. 25. ***Freeman,** E. M., (1) Minnesota botanical studies, 1904, Ser. 3, Bd. 3, S. 329. ***Fruwirth,** K., (1) Fühlings landw. Ztg., 1896, S. 194. — (2) Wiener landw. Ztg., 1902, S. 140. ***Fülles,** (1) Z. f. Hyg., 1891, Bd. 10, S. 225. ***Gerlach,** M., (1) Jahresber. d. Versuchsstat. Posen für 1900/1901; ref. in Biedermanns Centralbl., 1902, Bd. 31, S. 491. — (2) Jahresber. d. Versuchsstat. Posen für 1901/1902; ref. in Biedermanns Centralbl., 1903, Bd. 32, S. 425. ***Golding,** J., (1) The journal of agricultural science, 1905, Bd. 1, S. 59. ***Gottheil,** O., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 430. ***Gräbner,** P., (1) Die Heide Norddeutschlands. Berlin 1901. ***Gran,** H., (1) Bergens Mus. Aarbog, 1901, Nr. 10, S. 1. ***Gutzeit,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 16, S. 358. ***Haselhoff,** E., und **Bredemann,** G., (1) Landw. Jahrbücher, 1906, Bd. 35, S. 381. ***Heinze,** B., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 12, S. 43. — (2) Ebenda, 1905, Bd. 14, S. 9. — (3) Ebenda, 1906, Bd. 16, S. 329. ***Henriet,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1902, Bd. 135, S. 89 u. 191. ***Hilgard,** E. W., (1) Forschungen auf d. Gebiete d. Agrikulturphysik, 1879, Bd. 2, S. 441; 1893, Bd. 14, S. 131. ***Hiltner,** L., (1) Deutsche landw. Presse, 1901, Bd. 28, S. 203. — (2) Arbeiten a. d. biol. Abt. am Kais. Ges.-Amt, 1902, Bd. 3, S. 1. — (3) Arbeiten d. Deutsch. Landw.-Ges., Heft 98. Berlin 1904, S. 59. ***Hiltner,** L., und **Peters,** L., (1) Arbeiten a. d. biol. Abt. am Kais. Ges.-Amt, 1904, Bd. 4, S. 207. — (2) Arbeiten d. Kais. biol. Anst. f. Land- und Forstwirtsch., 1906, Bd. 5, S. 99. ***Hiltner,** L., und **Störmer,** K., (1) Arbeiten a. d. biol. Abt. am Kais. Ges.-Amt., 1903, Bd. 3, S. 445. ***Hoffmann,** M., (1) Bakterien u. Hefen in der Praxis d. Landwirtschaftsbetriebs. Berlin 1899. ***Hohl,** J., (1) Landw. Jahrb. d. Schweiz, 1904. ***Hoppe-Seyler,** (1) Z. f. physiolog. Chem., 1889, Bd. 13, S. 92. ***Hornberger,** R., (1) Ztschr. f. Forst- und Jagdwesen, 1905, Bd. 37, S. 71. ***Immendorff,** H., (1) Landw. Jahrbücher, 1892, Bd. 21, S. 281. ***van Iterson,** G., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 12, S. 106. ***Iwanoff,** L., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1903, Bd. 39, S. 31. ***Jarzymowski,** A., (1) Ueber d. Hartschaligkeit v. Leguminosensamen u. ihre Beseitigung. Dissert., Halle 1905. ***Jensen,** Hj., (1) Tidskrift for Landbrugets Planteavl, 1899, Bd. 5, S. 173. ***Kamerling,** J., (1) Verslag over 1900 van het Proefstation voor Suikerriet in Westjava „Kagok" te Pekalongan, 1901, S. 120. ***Kaserer,** H., (1) Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich, 1905, Bd. 8, S. 789. ***Keutner,** J., (1) Ueber d. Vorkommen u. über d. Verbreitung stickstoffbindender Bakterien im Meere. Wissenschaftl. Meeresuntersuch., Abt. Kiel, 1904, N. F., Bd. 8. ***King,** F. H., **Jeffrey,** J. A., **Whitson,** A. R., **Wells,** F. J., und **Vivian,** A., (1) 20th annual report of the Agric. Exp. Station of the University of Wiskonsin, 1905, S. 339; ref. in Biedermanns Centralbl. 1905, Bd. 34, S. 723. ***Koch,** Alfr., (1) Verhandlungen des XIII. Deutschen Weinbaukongresses in Mainz, 1894; ref. in Kochs Jahresb., 1894, Bd. 5, S. 89. — (2) Weinbau u. Weinhandel, 1896; ref. in Kochs Jahresb., 1896, Bd. 7, S. 99. — (3) Arbeiten d. Deutsch. Landw.-Ges., Berlin 1899, Heft 40. — (4) Bodenbakteriolog. Forschungen u. ihre prakt. Bedeutung. Vortrag, geh. a. 4./12. 1903 in d. Oekon. Ges. im Kgr. Sachsen. — (5) Mitteilungen der Deutsch. Landw.-Ges., 1906, Stück 10. ***Koch,** A., und **Kröber,** Ed., (1) Fühlings landw. Ztg., 1906, Bd. 55, S. 225. ***Koch,** Robert, (1) Mitteilungen a. d. Kais. Ges.-Amt, 1881, Bd. 1, S. 1. ***Köster,** P., (1) Jahrb. d. Deutsch. Landw.-Ges., 1900, Bd. 15, S. 55; vgl. auch folg. Citat. ***Köster** und **Schulze,** C., (1) Vorträge. Hannover 1899; ref. in Kochs Jahresb., 1899, Bd. 10, S. 260. ***Kolkwitz,** R., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 670. ***Koning,** C. J., (1) Gooiland. Sep. aus De Natuur, 1899 u. 1900. — (2) Arch. Néerlandaises des Sciences exactes et nat., 1904, 2. sér., Bd. 9, S. 34. ***Kosaroff,** P., (1) Arbeiten a. d. Kais. biol. Anst. f. Land- u. Forst-

wirtsch., 1906, Bd. 5, S. 126. ***Kossowitsch,** P., (1) Journ. f. exp. Landwirtsch., 1901, S. 637; ref. in Kochs Jahresb., 1901, Bd. 12, S. 405. ***Krüger,** W., (1) Landw. Jahrbücher, 1905, Bd. 34, S. 761. — (2) Ebenda, S. 785. ***Krüger,** W., und **Schneidewind,** W., (1) Landw. Jahrbücher, 1901, Bd. 30, S. 633. ***Kühn,** J., (1) Berichte a. d. physiol. Lab. u. d. Versuchsanst. d. landw. Inst. d. Universität Halle, Heft 3. Dresden 1881. ***Kunze,** G., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1906, Bd. 42, S. 357. ***Kutzleb,** V., (1) Ber. a. d. physiol. Lab. u. d. Versuchsanst. d. landw. Inst. der Universität Halle, Heft 4. Dresden 1882. ***Laurent,** Em., (1) Bull. de l'Acad. Roy. de Belgique, 1886, 3. sér., Bd. 9, S. 128. ***Lemmermann,** O., (1) Kritische Studien ü. Denitrifikationsvorgänge. Jena 1900. ***Linhart,** (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 221. ***Löhnis,** F., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 12, S. 262. — (2) Ebenda, 1904, Bd. 13, S. 706. — (3) Deutsche landw. Presse, 1904, Bd. 31, Nr. 98. — (4) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1905, Bd. 14, S. 1. — (5) Ebenda, S. 87. — (6) Ebenda, S. 582. — (7) Mitteilungen d. landw. Instituts d. Universität Leipzig, 1905, Heft 7, S. 1. u. Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 15, S. 361. ***Maassen** und **Müller,** (1) Mitteilungen a. d. Kais. biol. Anstalt f. Land- und Forstwirtschaft, 1906, Heft 2, S. 22. ***Maercker,** M., (1) Ztschr. d. landw. Centralvereins f. d. Prov. Sachsen, 1874, S. 70. ***Marchal,** E., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1901, Bd. 133, S. 1032. — (2) Bull. de l'Acad. Roy. de Belgique, 1893, 3. sér., Bd. 25, Nr. 6. — (3) Annales Soc. Belge de Microscopie, 1893, Bd. 17, S. 69; ref. in Kochs Jahresb., 1893, Bd. 4, S. 238. ***Matzuschita,** T., (1) Bakteriologische Diagnostik. Jena 1902. ***Miquel,** P., (1) Annuaire de l'observatoire de Montsouris pour l'an 1882. — (2) Ann. de microgr., 1897, Bd. 9, S. 199. ***Mitscherlich,** E. A., (1) Fühlings landw. Ztg., 1906, Bd. 55, S. 361. ***Möller,** A., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1906, Bd. 24, S. 230. ***Moore,** G. T., (1) Soil inoculation for legumes. U. S. Dep. of Agric., Bureau of plant industry, Bull. Nr. 71. Washington 1905. ***Moritz,** J., und **Scherpe,** R., (1) Arb. a. d. biol. Abt. am Kais. Ges.-Amt, 1904, Bd. 4, S. 123. — (2) Ebenda, S. 201. ***Müller,** P. E., (1) Die natürlichen Humusformen. Berlin 1887. ***Muntz,** A. und **Coudon,** H., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1893, Bd. 116, S. 395. ***Naegeli,** K. **von,** (1) Die niederen Pilze in ihren Beziehungen z. d. Infektionskrankheiten u. z. Gesundheitspflege. München 1877. ***Neide,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 12, S. 1. ***Neuburger,** A., (1) Ztschr. f. angew. Chem., 1905, Bd. 18, S. 1761. ***Nikitinsky,** J., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1902, Bd. 37, S. 365. ***Nobbe,** F., und **Richter,** (1) Landw. Versuchsstationen, 1902, Bd. 54, S. 441. — (2) Ebenda, 1904, Bd. 59, S. 167. ***Oberlin,** Chr., (1) Bodenmüdigkeit u. Schwefelkohlenstoff. Mainz 1894. ***Osswald,** W. Th., (1) Landw. Jahrbücher, 1877, Bd. 6, S. 391. ***Oudemans,** C. A. F. A., (1) Prodrome d'une flore mycologique obtenue par la culture préparée de la terre humeuse du Spongerswoud près de Bussum. Harlem 1902. ***Pagnoul,** M., (1) Ann. agron., 1895, S. 497; ref. in Kochs Jahresb., 1896, Bd. 7, S. 214. ***Perotti,** R., (1) Annali di Botanica, 1905, Bd. 3, S. 43; ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 16, S. 259. ***Pfeiffer,** A., (1) Z. f. Hyg., 1885, Bd. 1, Heft 3. ***Pfeiffer,** Th., (1) Verh. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Aerzte, 71. Vers. München, 2. Teil, 1. Hälfte. Leipzig 1900. — (2) Stickstoffsammelnde Bakterien, Brache und Raubbau. Berlin 1904. ***Pfeiffer,** Th., **Franke,** E., **Lemmermann,** O., und **Schilbach,** H., (1) Landw. Versuchsstationen, 1899, Bd. 51, S. 249. ***Pfeiffer,** Th., und **Lemmermann,** O., (1) Landw. Versuchsstationen, 1900, Bd. 54, S. 386. — (2) Mitteilungen d. landw. Inst. d. Universität Breslau, 1901, Heft 5, S. 189. ***Polzeniusz,** F., (1) Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich, 1898, Bd. 1, S. 235. ***Quehl,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 16, S. 9. ***Rahn,** O., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 15, S. 53 u. 422. — (2) Ebenda, 1906, Bd. 16, S. 382. ***Ramann,** E., (1) Bodenkunde. Berlin 1905. ***Ramann,** E., **Remelé,** C., **Schellhorn** und **Krause,** M., (1) Ztschr. f. Forst- und Jagdwesen, 1899, Bd. 31, S. 575. ***Reimers,** (1) Z. f. Hyg., 1889, Bd. 7, S. 315. ***Reinitzer,** Fr., (1) Bot. Ztg., 1. Abt., 1900, Bd. 58, S. 59. ***Remy,** Th., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 657. — (2) Der Landbote, 1903, Nr. 29—32. — (3) Ill. landw. Ztg., 1903, S. 983. — (4) Bericht ü. d. Tätigkeit d. Inst. f. Bodenlehre u. Pflanzenbau in Poppelsdorf im J. 1905/1906. Bonn 1906. ***Richter,** (1) Landw. Versuchsstationen, 1896, Bd. 47, S. 269. ***Rothe,** W., (1) Untersuchungen ü. d. Verhalten einiger Mikroorganismen d. Bodens zu Ammonsulfat u. Natriumnitrat. Dissert., Königsberg 1904. ***Rümker,** K. **von,** (1) Der Boden und seine Bearbeitung. Berlin 1901. ***Sachs,** F., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1905, Bd. 46, S. 332. ***Schander,** (1) Geisenheimer Mitteilungen ü. Obst- u. Gartenbau, 1905, Bd. 20, S. 150. ***Schloesing,** Th., fils, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1897, Bd. 125, S. 824. ***Schneidewind,** W., (1) Landw. Jahrbücher, 1902, Bd. 31, S. 823. ***Schulze,** C., (1) Landw. Jahrbücher, 1901, Bd. 30, S. 319. — (2) Jahresber. d. Vereinigung der Vertreter d. angew. Botanik pro 1903, Berlin 1904, Bd. 1, S. 37. ***Seelhorst, von,** (1) Deutsche landw. Presse, 1905, Bd. 32, Nr. 71—73. ***Seelhorst, von, Freckmann** und **Bünger,** (1) Ill. landw. Zeitg., 1904, Nr. 38. ***Sestini,** F., (1) Landw. Versuchsstationen, 1900, Bd. 54, S. 147. ***Sigmond, A. von,** (1) Landw. Ver-

suchsstationen, 1903, Bd. 59, S. 179. ***Sigmund,** W., (1) Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch., 1905, Bd. 3, S. 212. ***Söderbaum,** H. G., (1) K. Sv. Landtbruks-Akademiens Tidskrift, Stockholm, 1904, S. 1; ref. in Biedermanns Centralbl., 1906, Bd. 35, S. 221. ***Söhngen,** N. L., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 15, S. 513. ***Soyka,** (1) Prager med. Wochenschrift, 1885, Nr. 28. ***Stahl,** E., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1900, Bd. 34, S. 539. ***Stalström,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 11, S. 724. ***Stefan,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 16, S. 131. ***Stoklasa,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 1898, Bd. 4, S. 39. — (2) Deutsche landw. Presse, 1900, Bd. 27, S. 261. — (3) Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich, 1900, Bd. 3, S. 440. — (4) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 526. ***Stoklasa,** J., **Ducháček,** und **Pitra,** (1) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol., 1902, Bd. 3, S. 322. ***Stoklasa,** J., und **Ernest,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1905, Bd. 14, S. 723. ***Stutzer,** A., und **Klingenberg,** W., (1) J. f. Landwirtschaft, 1882, Bd. 30, S. 363. ***Stutzer,** A., und **Rothe,** W., (1) Fühlings landw. Ztg., 1905, Bd. 53, S. 629. ***Ternetz,** Ch., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1904, Bd. 22, S. 267. ***Thiele,** R., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 11, S. 251. — (2) Landw. Versuchsstationen, 1905, Bd. 63, S. 161. — (3) Mitteilungen d. landw. Inst. d. Universität Breslau, 1905, Bd. 3, S. 168. ***Thiesing,** H., (1) Mitteilungen d. Deutsch. Landw.-Ges., 1902, S. 279, u. Mitteil. a. d. kgl. Prüfungsanst. f. Wasserversorgung und Abwasserbeseitigung zu Berlin, 1902, Heft 1, S. 118. ***Thomas,** Fr., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1905, Bd. 23, S. 476. ***Tretjakow,** S., (1) Journ. f. experim. Landwirtsch., 1902, S. 603; ref. in Kochs Jahresb., 1902, Bd. 13, S. 499. ***Vibrans,** (1) Sächs. landw. Zeitschr., 1899, S. 635; ref. in Kochs Jahresb., 1899, Bd. 10, S. 261. ***Vogel,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 15, S. 33. ***Volpino,** G., (1) Ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 15, S. 70. ***Vries,** H. **de,** (1) Ann. agronom., 1901, S. 443; ref. in Biedermanns Centralbl., 1902, Bd. 31, S. 204. ***Wagner,** P., (1) Die Stickstoffdüngung d. landw. Kulturpflanzen. Berlin 1892. — (2) Arbeiten d. Deutsch. Landw.-Ges., Berlin 1903, Heft 80. — (3) Ebenda, Berlin 1904, Heft 98, S. 28. ***Wagner,** P., **Aeby, Dorsch** und **Matz,** (1) Landw. Versuchsstationen, 1897, Bd. 47, S. 247. ***Ward,** Marshall, (1) Philos. Transactions Roy. Soc., Ser. B, 1899, Bd. 191, S. 269. ***Warmbold,** H., (1) Landw. Jahrbücher, 1906, Bd. 35, S. 1. ***Wehmer,** C., (1) Hannoversche Garten- u. Obstbauztg., 1904, Nr. 2. ***Welbel,** (1) Journ. f. experim. Landwirtsch., 1903, S. 307; ref. in Kochs Jahresb., 1903, Bd. 14, S. 446. ***Withers,** A., und **Fraps,** S., (1) Journ. americ. chem. soc., 1901, Bd. 23, S. 318. — (2) Ebenda, 1902, S. 528. — (3) North Carolina Exp. Station, 1903, S. 3; ref. in Kochs Jahresb., 1903, Bd. 14, S. 446. ***Wohltmann,** F., (1) J. f. Landwirtschaft, 1902, Bd. 50, S. 377. ***Wohltmann,** F., **Fischer,** H., und **Schneider,** Ph., (1) J. f. Landwirtschaft, 1904, S. 97. ***Wollny,** E., (1) Forschungen a. d. Gebiete d. Agrikulturphysik, 1880, Bd. 3, S. 1. — (2) Ebenda, 1882, Bd. 5, S. 373. — (3) Die Zersetzung d. organ. Stoffe u. die Humusbildung. Heidelberg 1897. — (4) Vierteljahrsschr. d. Bayr. Landwirtschaftsrats, 1898, Heft 4.

Sach-Register

zusammengestellt von

Dr. Alexander Kossowicz

in Wien.

(Ein Sternchen * vor der Seitenzahl bedeutet Abbildung. — Unter C bezw. K vermißte Stichwörter suche man unter K bezw. C. Wörter mit ä, ö, ü suche man alphabetisch unter ae, oe, ue. — Die Synonyma wichtiger Organismen sind angeführt, so daß man betr. eines solchen an mehreren Stellen nachzusehen haben wird.)

A.

B.

C.

D.

E.

F.

I.

J.

K.

L.

M.

N.

O.

P.

T.

X.

Z.

Berichtigungen.

Seite	13,	Zeile	23	anstatt *Stoklasa*	lies	Stoklasa
„	39,	„	5	„ gelatinwüchsige	„	gelatinewüchsige
„	52,	„	26	„ *B. Beijerinckii*	„	*Rh. Beijerinckii*
„	52,	„	28	„ *B. radicicola*	„	*Rh. radicicola*
„	67,	„	10	„ Pilztäden	„	Pilzfäden
„	69,	„	28	„ tördernden	„	fördernden
„	74,	„	10	„ verwenden.	„	vorziehen.
„	107,	„	14	„ Kapronsäure	„	Capronsäure
„	107,	„	20	„ Methylmerkaptan	„	Methylmercaptan
„	124,	„	33	„ *Trychophyton*	„	*Trichophyton*
„	206,	„	52	„ m	„	im
„	291,	„	26	„ Holzgummi	„	Gummi
„	317,	„	52	„ Afral Mycelicid	„	Afral, Mycelicid

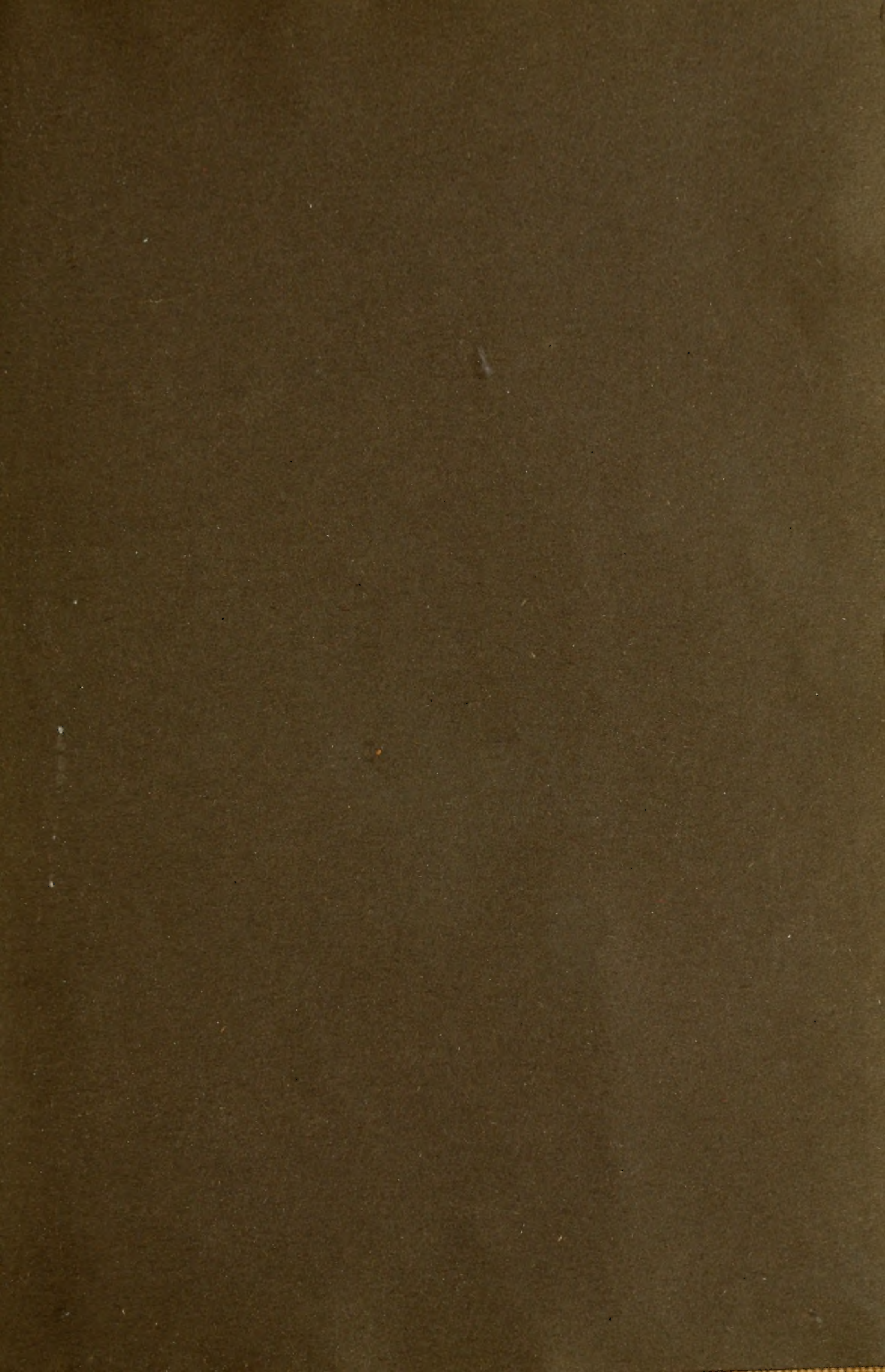
Tafel VI, Fig. 3 u. 4 anstatt *Actinomyces odoriferus* lies *Act. odorifer*

Abkürzungen

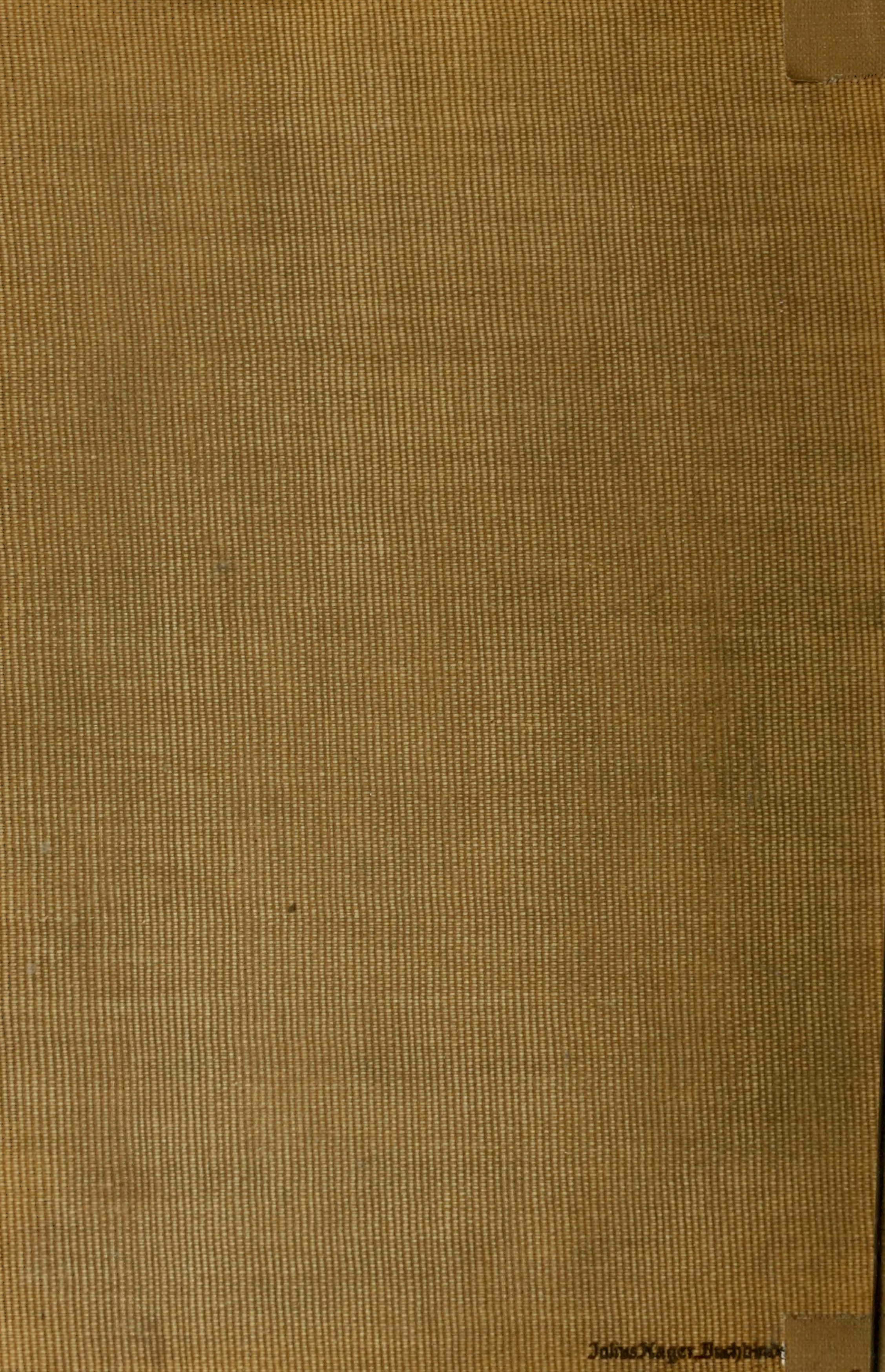
der Zeitschriftentitel in den Literatur-Nachweisen.

Ann. de chim. et de phys. = Annales de chimie et de physique.
Ann. de microgr. = Annales de micrographie.
Ann. Pasteur = Annales de l'Institut Pasteur (Paris).
Arb. Kais. Ges.-Amt = Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt in Berlin.
Arch. d. Anat. u. Phys. = Archiv der Anatomie und Physiologie. Physiolog. Abt. (Du Bois-Reymond).
Arch. f. Hyg. = Archiv für Hygiene.
Beitr. z. Biol. d. Pflanz. = Beiträge zur Biologie der Pflanzen (Cohn).
Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. = Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft.
Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. = Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft.
Biedermanns Centralbl. = Centralblatt für Agrikulturchemie (Biedermann).
Bot. Ztg. = Botanische Zeitung.
Centralbl. f. Bakt. = Centralblatt für Bakteriologie.
Chem.-Ztg. = Chemiker-Zeitung (Cöthen).
Comptes rend. de l'Ac. = Comptes rendus de l'Académie des sciences (Paris).
Comptes rendus de Carlsberg = Comptes rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg, Kopenhagen.
Dinglers Journ. = Dinglers polytechnisches Journal.
Hyg. Rundsch. = Hygienische Rundschau.
Jahrb. wiss. Bot. = Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik (Pringsheim).
J. federated Inst. Brewing = Journal of the Federated Institutes of Brewing.
J. f. Landwirtschaft = Journal für Landwirtschaft.
J. f. prakt. Chem. = Journal für praktische Chemie.
Kochs Jahresb. = Kochs Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen.
Landw. Jahrbücher = Landwirtschaftliche Jahrbücher (Berlin).
Landw. Jahrb. d. Schweiz = Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz.
Landw. Versuchsstationen = Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen (Nobbe).
Liebigs Ann. = Annalen der Chemie und Pharmacie (Liebig).
Milchztg. = Milchzeitung.
Mitt. Kais. Ges.-Amt = Mitteilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt.
Monatsh. f. Chem. = Monatshefte für Chemie (Wien).
Pflügers Archiv = Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie.
Poggendorffs Ann. = Annalen der Physik und Chemie (Poggendorff).
Virchows Archiv = Archiv für pathologische Anatomie (Virchow).
W. f. Brauerei = Wochenschrift für Brauerei.
Z. f. Biologie = Zeitschrift f. Biologie.
Z. f. d. ges. Brauwesen = Zeitschrift für das gesamte Brauwesen (München).
Z. f. Hyg. = Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten.
Z. f. Pflanzenkrankheiten = Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten.
Z. f. physiolog. Chem. = Zeitschrift für physiologische Chemie.
Z. f. Spiritusindustrie = Zeitschrift für Spiritusindustrie.
Z. f. wiss. Mikroskopie = Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie.
Z. f. Nahrungsmittel-Unters. etc. = Zeitschrift für Nahrungsmittel-Untersuchung und Hygiene (Wien).

Druck von Lippert & Co. (G. Pätz'sche Buchdr.), Naumburg a/S.






Julius Hager, Buchbind